

#### ECOFISIOLOGÍA Y MANEJO DE CULTIVOS

**Evaluación de reguladores de crecimiento como raleadores en racimos de 'Thompson Seedless'. Evaluation of growth regulators asthynners on 'Thompson Seedless' table grapes clusters.** G. N. Arancibia Urzúa, R. Callejas Rodríguez, G. R. Meza. p. 1.

**Índice de sitio en plantaciones de Cedrela odorata en el trópico húmedo de México. Site index for Cedrela odorata in the humid tropics of Mexico.** Y. Murillo-Brito, M. Domínguez-Domínguez, P. Martínez-Zurimendi, L. del C. Lagunes-Espinoza, A. Aldrete. p. 15.

**Comparación de las respuestas al estrés hídrico y salino de los portainjertos de vid 1103P y 101-14Mgt, injertados con Cabernet Sauvignon. Comparing water deficit and saline stress between 1103P and 101-14Mgt rootstocks, grafted with Cabernet Sauvignon.** C. C. Lucero, M. Di Filippo, H. Vila, M. Venier. p. 33.

**Consumo de nitrógeno por cultivares de caña de azúcar en Tabasco, México. Consumption of nitrogen by cultivares of sugar in Tabasco, Mexico.** S. Salgado García, J. Izquierdo Hernández, L. del C. Lagunes Espinoza, D. J. Palma López, S. Córdova Sanchez, H. Ortiz Laurel, M. Castelán Estrada. p. 45.

**Use of copper hydroxide in the cultivation of lisianthus seedlings (Eustoma grandiflorum L.) under floating system. Uso de hidróxido de cobre en plantines de lisianthus (Eustoma grandiflorum L.) cultivados en sistema de raíces flotantes.** L. A. Barbaro, M. A. Karlanian, D. A. Mata. p. 61.

**Efecto de la fertilización nitrogenada y la edad del rebrote sobre el valor nutritivo de Brachiaria brizantha cv. "Marandú". Effect of age regrowth and nitrogen fertilization on the nutritive value of Brachiaria brizantha cv. "Marandú".** L. Gándara, C. I. Borrajo, J. A. Fernández, P. M. Mercedes. p. 69.

#### RECURSOS NATURALES Y AMBIENTE

**Evolución de la salinidad de los suelos regadíos del río Tunuyán Inferior (Mendoza - Argentina). Salinity evolution in irrigated soils in the Lower Tunuyán River basin (Mendoza - Argentina).** F. Tozzi, A. Mariani, R. Vallone, J. Morábito. p. 79.

**Abonos obtenidos del compostado de heces de ganado bovino de leche vs. fertilizante en la producción de triticale (X Triticum secale Wittmack). Compost obtained from feces of dairy cattle vs. fertilizer on triticale production (X Triticum secale Wittmack).** M. Á. Beltrán Santoyo, G. Álvarez Fuentes, J. M. Pinos Rodríguez, J. C. García Lopez, R. Castro Rivera. p. 95.

**The stability of various community types in sand dune ecosystems of northeastern China. Estabilidad de varios tipos de comunidad en ecosistemas de dunas en el noreste de China.** Y. Tang, X. Li, J. Wu, C. A. Busso. p. 105.

#### ECONOMÍA Y POLÍTICA AGRARIA

**Aplicación de técnicas de muestreo probabilístico para estimar la calidad del mosto de uvas tintas. Sampling probabilistic vineyards of tint grapes to estimate the quality of the must.** J. Llera, N. Martinengo, H. Galiotti. p. 119.

#### PROTECCIÓN VEGETAL

**Estudio del potencial biocontrolador de las plantas autóctonas de la zona árida del noroeste de México: control de fitopatógenos. Study of the autochthonous plants as a potential biocontroller in the northwest area of Mexico: control of phytopathogens.** G. Andrade-Bustamante, Al. M. García-López, L. Cervantes-Díaz, C. E. Ail-Catzim, J. Borboa-Flores, E. O. Rueda-Puente. p. 127.

**Distribution and frequency of tomato ringspot virus (ToRSV) in different varieties of Rubus idaeus in the Maule Region, Chile. Distribución y frecuencia de tomato ringspot virus (ToRSV) en diferentes variedades de Rubus idaeus en la Región del Maule, Chile.** G. R. González Silva, C. M. Concha Espinoza, M. A. Valenzuela Bustamante, L. C. Cordero Alday, J. N. Pico Mendoza, P. A. Cáceres Ruz, R. García González. p. 143.

**Efecto del tratamiento térmico sobre la presencia de virus en bulbos de ajo (Allium sativum L.). Effect of thermic treatment on the presence of virus in garlic (Allium sativum L.) bulbs.** R. Velásquez-Valle, M. Reveles-Hernández, Y. I. Chew- Medinaveitia, L. R. Reveles-Torres. p. 157.

#### PRODUCCIÓN Y SANIDAD ANIMAL

**First record of Diploscapter coronata (Rhabditida), a possible health significance nematode associated with tomato crops in Argentina. Primer registro de Diploscapter coronata (Rhabditida), un posible nematodo de importancia sanitaria asociado a cultivos de tomate en Argentina.** A. Salas, J. M. Rusconi, N. Camino, D. Eliceche, M. F. Achinelly. p. 167.

**Comportamiento espacial de Zebra chip y Bactericera cockerelli (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) en Solanum tuberosum L. en valles altos de México. Zebra chip spatial behavior and Bactericera cockerelli (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) in Solanum tuberosum L. in valleys high of Mexico.** A. Contreras-Rendón, A. Tarin Gutiérrez-Ibáñez, J. R. Sánchez-Pale, H. V. Silva-Rojas, A. Laguna-Cerda. p. 175.

**Influence of calcium propionate on in vitro fermentation of sorghum-based diets. Efecto del propionato de calcio en la fermentación in vitro de dietas a base de sorgo.** L. A. Miranda, H. A. Lee-Rangel, G. D. Mendoza-Martínez, M. M. Crosby-Galván, A. E. Relling, J. M. Pinos-Rodríguez, R. Rojo Rubio, M. González Hernandez. p. 185.

**Nuevos registros de dos especies de Toxotrypana (Diptera: Tephritidae) en la Argentina. New records of two species of Toxotrypana (Diptera: Tephritidae) in Argentina.** I. Bertolaccini, D. Castro, M. C. Curis, R. A. Zucchi. p. 193.

#### TECNOLOGÍAS AGROINDUSTRIALES

**¿Es posible determinar azúcares reductores en vinos por el método Fehling Causse Bonnans, sin utilizar acetato neutro de plomo? Is it possible measure reducing sugar in wines by Fehling Causse Bonnans method, without using neutral lead acetate?** D. Cobos, L. Germano, E. Malovini, S. Paladino. p. 197.

#### PERSPECTIVAS

**Salinización del suelo en tierras secas irrigadas: perspectivas de restauración en Cuyo, Argentina. Soil salinization in irrigated drylands: prospects for restoration in Cuyo, Argentina.** B. G. Johnson, E. M. Abraham, M. A. Cony. p. 205.

**Normas para la presentación de artículos.** p. 217.

Nº 1 Año 2017

Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias

Tomo 49



## Revista de la FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Universidad Nacional de Cuyo

En ISI & SCOPUS

Tomo 49  
Nº 1 Año 2017  
ISSN impreso 0370-4661  
ISSN on-line 1853-8665

MENDOZA  
ARGENTINA



Universidad Nacional de Cuyo  
Rector  
Prof. Ing. Agr. Daniel Pizzi



Facultad de Ciencias Agrarias  
Decana  
Prof. Ing. Agr. Concepción Arjona

#### **Directora científica**

Dra. Ing. Agr. María Flavia Filippini (UNCUYO, Argentina)

#### **Editora asistente**

Prof. Ing. Agr. Adriana I. Caretta (UNCUYO, Argentina)

#### **Editora asistente en Lengua Inglesa**

M. Sc. Inés Pilar Hugalde (INTA, Argentina)

#### **Editores asociados**

Dra. Adriana Abril (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina)

Dr. Edmundo Bordeu (Pontificia Universidad Católica, Chile)

Dr. Ing. Agr. Guido Fernando Botta (Universidad Nacional de Luján, Argentina)

Dr. Marcelo Cabido (IMBIV-Universidad Nacional de Córdoba, Argentina)

M. Sc. Ing. Agr. Juan Bruno Cavagnaro (UNCUYO, CONICET, Argentina)

Dra. Edi Defrancesco (Università degli Studi di Padova, Italia)

Dr. Pablo Delgado Sánchez (Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México)

Dr. José Díaz Osorio (Universidad de Talca, Chile)

Dr. Ing. Agr. Alejandro J. Gennari (UNCUYO, Argentina)

Dr. Ing. Agr. Alberto Daniel Golberg (Universidad Nacional de La Pampa, Argentina)

Dr. Ing. Agr. Ricardo W. Masuelli (UNCUYO, INTA, CONICET, Argentina)

M. Sc. Ing. Agr. José Morábito (UNCUYO, INTA, Argentina)

Dr. Ing. Agr. Hernán Ojeda (Agro-Montpellier, Francia)

Dra. Marta Paris (Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina)

Dr. Ing. Agr. Pablo H. Pizzuolo (UNCUYO, Argentina)

Dr. Enrique Sánchez (INTA, Argentina)

Dr. Hernán Vila (INTA, Argentina)

Dr. Pablo Villagra (UNCUYO, CONICET, Argentina)

Dr. Eduardo G. Virla (PROIMI-Biotecnología, CONICET, Argentina)

#### **Comité editor**

Dr. Jorge Alcalá Jáuregui (Universidad Autónoma San Luis Potosí, México)

Dra. Mónica Balzarini (UNCórdoba, CONICET, Argentina)

M. Sc. Ing. Agr. Mónica Bauzá (UNCUYO, Argentina)

Dra. Mónica Bertiller (Centro Nacional Patagónico, CENPAT, Argentina)

Dr. Luis Del Vitto (Universidad Nacional de San Luis, Argentina)

Dr. Ing. Agr. Claudio Galmarini (UNCUYO, CONICET, INTA, Argentina)

Ing. Agr. Juan Carlos Guevara (UNCUYO, CONICET, Argentina)

Dra. María Dolores Lettelier (UNCUYO, Argentina)

M.Sc. Ing. Agr. Víctor Lipinski (UNCUYO, INTA, Argentina)

Prof. Luis López Valladares (Universidad de Chile, Santiago de Chile)

Dr. Luis Marone (UNCUYO, CONICET, Argentina)

Dra. Ing. Agr. Liliana E. Martínez (UNCUYO, Argentina)

Dr. Ferdinando Pimpini (Università degli Studi di Padova, Italia)

Ing. Agr. José Rodríguez (UNCUYO, Argentina)

Dr. José Roldán Cañas (Universidad de Córdoba, España)

Prof. Ing. Agr. Santiago Sarandón (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)

M. Sc. Ing. Agr. Fabio Tacchini (UNCUYO, Argentina)

M. Sc. Ing. Agr. Rosana Vallone (UNCUYO, INTA, Argentina)

#### **Coordinadora**

Prof. Claudia Lépez

#### **Diseño y autoedición**

Dis. Gráfica Cintia Eliana Costa • Dis. Gráfica Brenda Rodriguez • Hugo Leonardo Fontes

Publicación diagramada en el  
Centro de Ediciones Académicas  
Facultad de Ciencias Agrarias  
Universidad Nacional de Cuyo  
Junio 2017

Tirada: 240 ejemplares



Se terminó de imprimir  
el 31 de julio de 2016 en  
Inca Editorial Talleres Gráficos  
Cooperativa de Trabajo Ltda.  
José Federico Moreno 2164/2188  
5500 - Ciudad de Mendoza  
República Argentina  
Telefax (0261) 429 0409 - 425 9161  
E-mail: incasterio@incaeditorial.com  
www.incaeditorial.com

Impreso en Mendoza, Argentina  
Printed in Mendoza, Argentina



Facultad de Ciencias Agrarias  
Universidad Nacional de Cuyo

Ref. N°

## BIBLIOTECA

biblio@fca.uncu.edu.ar

Hemos recibido por We have received by Nous avons reçu par	CANJE EXCHANGE <input type="checkbox"/> ECHANGE	DONACIÓN GIFT <input type="checkbox"/> DONATION	SUSCRIPCIÓN SUBSCRIPTION <input type="checkbox"/> SOUSCRIPTION
<b>REVISTA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS</b> Vol.: 49 N°: 1 Año: 2017			
Nos está faltando We are in want of Il nous manque			
Enviamos a ustedes We send you Nous envoyons			
Dirección correcta Correct address Adresse correcte			
Fecha Date Date		Firma Signature Signature	

Los envíos posteriores dependen de la devolución de esta tarjeta.  
Further mailings depend on the return of this card.  
Les expéditions ultérieures dépendent du renvoi de cette carte.

Solicitamos canje  
Please exchange  
Nous demandons l'échange

Papel reciclado  
Recycled paper



## REVISTA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

PARA SUSCRIBIRSE, COMPLETAR ESTE FORMULARIO  
TO SUBSCRIBE, COMPLETE THIS FORM  
POUR FAIRE LA SOUSCRIPTION, COMPLÉTER CE FORMULAIRE

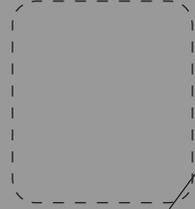
SUSCRIPCIÓN - SUBSCRIPTION - SOUSCRIPTION

Valor de la suscripción Suscripción price Valeur de la souscription	Un año (dos números) One year (two numbers) Un année (deux numéros)	u\$s	60.00
Nombre / Institución Name / Institution Nom / Institution			
Dirección Address Adresse			
Teléfono / Fax Telephone / Fax Telephone / Fax			
Cheque / Giro N° Check / Money Order N° Cheque / Change N°		Banco Bank Banque	
A la orden de To order A l'ordre	<b>Asociación Cooperadora de la Facultad de Ciencias Agrarias Alte. Brown 500 (M5528AHB) - Chacras de Coria Mendoza - Argentina</b>		
Fecha Date Date		Firma Signature Signature	

Papel reciclado  
Recycled paper

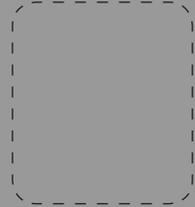


*Tarjeta Postal*  
*Post Card*  
*Carte Postale*



**BIBLIOTECA**  
**Facultad de Ciencias Agrarias**  
**Universidad Nacional de Cuyo**  
**Almirante Brown 500**  
**Chacras de Coria, Mendoza**  
**República Argentina**  
**M5528AHB**

*Tarjeta Postal*  
*Post Card*  
*Carte Postale*



**BIBLIOTECA**  
**Facultad de Ciencias Agrarias**  
**Universidad Nacional de Cuyo**  
**Almirante Brown 500**  
**Chacras de Coria, Mendoza**  
**República Argentina**  
**M5528AHB**

Revista  
de la  
Facultad de Ciencias Agrarias  
Universidad Nacional de Cuyo



## **Ficha de Catalogación**

(Escala: 1:1)

**Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias.**

**-- T. 1, n° 1, 1949 -**

**Mendoza : Facultad de Ciencias Agrarias.**

**Universidad Nacional de Cuyo, 1949 -**

**v. : il; 24 cm**

**Semestral**

**ISSN 0370-4661**

**CDU 63**

Consultas referidas a los artículos de la Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNCUYO), deben remitirse a:

Centro Coordinador de Ediciones Académicas (UNCUYO)  
Almirante Brown 500  
Chacras de Coria  
Mendoza (Argentina)  
M5528AHB

Tel: (54 261) 413-5000 - Int. 1220

e-mail: [ccea@fca.uncu.edu.ar](mailto:ccea@fca.uncu.edu.ar)

web: <http://revista.fca.uncu.edu.ar>

<http://bdigital.uncu.edu.ar>

La correspondencia relacionada con la distribución y/o canje, debe dirigirse a:

Biblioteca de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNCUYO)  
Almirante Brown 500  
Chacras de Coria  
Mendoza (Argentina)  
M5528AHB

Tel.: (54 261) 413-5000 - Int. 1117

Fax: (54 261) 496-0469

e-mail: [biblio@fca.uncu.edu.ar](mailto:biblio@fca.uncu.edu.ar)

El contenido de los artículos que aparecen en esta Revista es responsabilidad de sus autores.  
Prohibida su reproducción total o parcial sin autorización del editor.

*La Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo publica artículos originales e inéditos, escritos en español o inglés, cuya temática está relacionada con la ingeniería agronómica, ciencias de los alimentos y los recursos naturales renovables.*

*El material que se publica pertenece tanto a investigadores de la propia institución así como de otras facultades y centros de investigación del país y del extranjero.*

*La inserción de los artículos está sometida a las normas internacionales vigentes, con referato por parte de especialistas en cada disciplina.*

**La Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNCUYO está categorizada por el CAICYT (Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica del CONICET) en el Nivel Superior de Excelencia (Categoría 1).**

Esta publicación está indizada en:

LATINDEX

Bulletin de l'O.I.V. (Revue signalétique internationale)

VITIS-VEA (Viticulture and Enology Abstracts)

AGRIS - F.A.O.

CAB Abstracts

CABI Full Text

Ulrich's International Periodicals Directory

International Society for Pest Information (ISPI)

Fuente Académica de EBSCO

Agri2000 de SIDALC

Science Citation Index Expanded

Journal Citation Reports/Science Edition

Biological Abstracts

BIOSIS Previews

CABELLS

DOAJ (Directory of Open Access Journals)

REDALYC (Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe)

Thomson Reuters (ex ISI)

Scopus & Embase

Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas

SciELO Argentina

## Evaluadores 2017

**Christian Alvarado**

UACHile

**Ernesto Andenmatten**

INTA

**Nora Raquel Andrada**

UNSan Luis

**Cristina Arakaki**

INTA

**Pablo Diego Asprelli**

INTA

**Renato Azevedo**

Instituto Nacional de Pesquisas da  
Amazônia

**Oswaldo Balbuena**

INTA

**José Bava**

CIEFAP

**Federico Berli**

UNCuyo

**Aldo Bernardis**

UNNE

**Adasme Berríos**

UCatólica del Maule-Chile

**Andrea Blazsek**

UNCuyo

**Cecilia Bruno**

UNCórdoba

**Jorge Brunori**

INTA

**José Luis Burba**

INTA

**Micaela Buteler**

CONICET

**Federico Casassa**

INTA

**Elsa Ciotti**

UNNE

**Guillermo Claps**

UNTucumán

**Victoria Coll Araoz**

PROIMI-Biotecnología

**Reginaldo Constantino**

Universidade de Brasilia, Brazil

**Roque Craviotto**

INTA

**Antonio Dalmasso**

IADIZA

**Omar Del Ponti**

ULa Pampa

**Alfredo Di Costanzo**

Universidad de Minnesota

**Daniel Ducasse**

INTA

**Susana del Toro**

UNCuyo

**Claudia Flores**

UNLa Plata

**Andrés Fonterosa**

UBA

**Diana Frezza**

UBA

**Francisco Fuentes**

UCatólica de Chile

**Carina Gallo**

NTA

**Lidia Giuffré**

FAUBA

**Carina Gonzalez**

UNCuyo

**Gabriela Lucero**

UNCuyo

**Roberto Marano**

UNLitoral

**Carlos Marfil**

UNCuyo

**Roberto Martinez**

INTA

**Libertad Mascarini**

FAUBA

**Celeste Molina Favero**

INTA

**Marcos Mora**

UChile

**Yisa Ochoa**

UAutónoma Agraria Antonio Narro

**Gustavo Polenta**

INTA

**María Teresa Ponce**

UNCuyo

**María Eugenia Rodríguez**

UNCuyo

**Mónica Ruiz**

INTA

**Santiago Sari**

INTA

**Pablo Schliserman**

Centro de Investigaciones y  
Transferencia de Catamarca

**María Fernanda Silva**

UNCuyo

**Margarita Rosa Sillon**

UNLitoral

**Roberto Sopena**

INTA Tucumán

**Héctor Svartz**

UBA

**Natalia Szerman**

INTA

**Margot Tablada**

UNCórdoba

**Edith Taleisnik**

INTA

**Javier Tonatto**

INTA

**Graciela Truol**

INTA

**Alejandra Valverde**

UBA

**Silvia van den Bosch**

UNCuyo

**Marisol Vargas**

UConcepción-Chile

**Lucía Vignoni**

UNCuyo

**Marisa Wawrzekiewicz**

FAUBA

**Gustavo Zuleta**

Universidad Maimónides

# Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional de Cuyo

TOMO 49(1) - JUNIO 2017

## ÍNDICE

### ECOFISIOLOGÍA Y MANEJO DE CULTIVOS

**Evaluación de reguladores de crecimiento como raleadores en racimos de 'Thompson Seedless'**  
*Evaluation of growth regulators as thinners on 'Thompson Seedless' table grapes clusters*  
G. N. Arancibia Urzúa, R. Callejas Rodríguez, G. R. Meza. ....1

**Índice de sitio en plantaciones de *Cedrela odorata* en el trópico húmedo de México**  
*Site index for Cedrela odorata in the humid tropics of Mexico*  
Y. Murillo-Brito, M. Domínguez-Domínguez, P. Martínez-Zurimendi, L. del C. Lagunes-Espinoza,  
A. Aldrete. .... 15

**Comparación de las respuestas al estrés hídrico y salino de los portainjertos de vid 1103P y 101-14Mgt, injertados con Cabernet Sauvignon**  
*Comparing water deficit and saline stress between 1103P and 101-14Mgt rootstocks, grafted with Cabernet sauvignon*  
C. C. Lucero, M. Di Filippo, H. Vila, M. Venier. .... 33

**Consumo de nitrógeno por cultivares de caña de azúcar en Tabasco, México**  
*Consumption of nitrogen by cultivares of sugar in Tabasco, Mexico*  
S. Salgado García, J. Izquierdo Hernández, L. del C. Lagunes Espinoza, D. J. Palma López,  
S. Córdova Sanchez, H. Ortiz Laurel, M. Castelán Estrada. ....45

**Use of copper hydroxide in the cultivation of lisianthus seedlings (*Eustoma grandiflorum* L.) under floating system**  
*Uso de hidróxido de cobre en plantines de lisianthus (*Eustoma grandiflorum* L.) cultivados en sistema de raíces flotantes*  
L. A. Barbaro, M. A. Karlanián, D. A. Mata. ....61

**Efecto de la fertilización nitrogenada y la edad del rebrote sobre el valor nutritivo de *Brachiaria brizantha* cv. "Marandú"**  
*Effect of age regrowth and nitrogen fertilization on the nutritive value of *Brachiaria brizantha* cv. "Marandú"*  
L. Gándara, C.I. Borrajo, J. A. Fernández, P. M. Mercedes. ....69

## RECURSOS NATURALES Y AMBIENTE

---

### **Evolución de la salinidad de los suelos regadíos del río Tunuyán Inferior (Mendoza - Argentina)**

*Salinity evolution in irrigated soils in the Lower Tunuyán River basin (Mendoza - Argentina)*

F. Tozzi, A. Mariani, R. Vallone, J. Morábito .....79

### **Abonos obtenidos del compostado de heces de ganado bovino de leche vs. fertilizante en la producción de triticale (*X Triticum secale* Wittmack)**

*Compost obtained from feces of dairy cattle vs. fertilizer on triticale production (*X Triticum secale* Wittmack)*

M. Á. Beltrán Santoyo, G. Álvarez Fuentes, J. M. Pinos Rodríguez, J. C. García Lopez, R. Castro Rivera. ....95

### **The stability of various community types in sand dune ecosystems of northeastern China**

*Estabilidad de varios tipos de comunidad en ecosistemas de dunas en el noreste de China*

Y. Tang, X. Li, J. Wu, C. A. Busso. ....105

## ECONOMÍA Y POLÍTICA AGRARIA

---

### **Aplicación de técnicas de muestreo probabilístico para estimar la calidad del mosto de uvas tintas**

*Sampling probabilistic vineyards of tint grapes to estimate the quality of the must*

Joaquín Llera, Nora Martinengo, Hugo Galiotti. .... 119

## PROTECCIÓN VEGETAL

---

### **Estudio del potencial biocontrolador de las plantas autóctonas de la zona árida del noroeste de México: control de fitopatógenos**

*Study of the autochthonous plants as a potential biocontroller in the northwest area of Mexico: control of phytopathogens*

G. Andrade-Bustamante, A. Manelik García-López, L. Cervantes-Díaz, C. E. Aíl-Catzim, J. Borboa-Flores, E. O. Rueda-Puente. .... 127

### **Distribution and frequency of tomato ringspot virus (ToRSV) in different varieties of *Rubus idaeus* in the Maule Region, Chile.**

*Distribución y frecuencia de tomato ringspot virus (ToRSV) en diferentes variedades de *Rubus idaeus* en la Región del Maule, Chile*

G. R. González Silva, C. M. Concha Espinoza, M. A. Valenzuela Bustamante, L. C. Cordero Alday, J. N. Pico Mendoza, P. A. Cáceres Ruz, R. García González. .... 143

### **Efecto del tratamiento térmico sobre la presencia de virus en bulbos de ajo (*Allium sativum* L.)**

*Effect of thermic treatment on the presence of virus in garlic (*Allium sativum* L.) bulbs*

R. Velásquez-Valle, M. Reveles-Hernández, Y. I. Chew- Medinaveitia, L. R. Reveles-Torres. ....157

## PRODUCCIÓN Y SANIDAD ANIMAL

---

### **First record of *Diploscapter coronata* (Rhabditida), a possible health significance nematode associated with tomato crops in Argentina.**

*Primer registro de Diploscapter coronata (Rhabditida), un posible nematodo de importancia sanitaria asociado a cultivos de tomate en Argentina*

A. Salas, J. M. Rusconi, N. Camino, D. Eliceche, M. F. Achinelly. ....167

### **Comportamiento espacial de Zebra chip y *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) en *Solanum tuberosum* L. en valles altos de México**

*Zebra chip spatial behavior and Bactericera cockerelli (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) in Solanum tuberosum L. in valleys high of Mexico A.*

Contreras-Rendón, A. Tarín Gutiérrez-Ibáñez, J. R. Sánchez-Pale, H. V. Silva-Rojas, A. Laguna-Cerda.....175

### **Influence of calcium propionate on *in vitro* fermentation of sorghum-based diets**

*Efecto del propionato de calcio en la fermentación in vitro de dietas a base de sorgo.* L. A. Miranda, H. A. Lee-Rangel, G. D. Mendoza-Martínez, M. M. Crosby-Galván, A. E. Relling, J. M. Pinos-Rodríguez,

R. Rojo Rubio, M. González Hernandez. .... 185

### **Nuevos registros de dos especies de *Toxotrypana* (Diptera: Tephritidae) en la Argentina**

*New records of two species of Toxotrypana (Diptera: Tephritidae) in Argentina*

I. Bertolaccini, D. Castro, M. C. Curis, R. A. Zucchi. ....193

## TECNOLOGÍAS AGROINDUSTRIALES

---

### **¿Es posible determinar azúcares reductores en vinos por el método Fehling Causse Bonnans, sin utilizar acetato neutro de plomo?**

*Is it possible measure reducing sugar in wines by Fehling Causse Bonnans method, without using neutral lead acetate?*

D. Cobos, L. Germano, E. Malovini, S. Paladino. .... 197

## PERSPECTIVAS

---

### **Salinización del suelo en tierras secas irrigadas: perspectivas de restauración en Cuyo, Argentina**

*Soil salinization in irrigated drylands: prospects for restoration in Cuyo, Argentina*

B. G. Johnson, E. M. Abraham, M. A. Cony. .... 205

**Normas para la presentación de artículos.** p. 217

## **Evaluación de reguladores de crecimiento como raleadores en racimos de 'Thompson Seedless'**

### **Evaluation of growth regulators asthinnerers on 'Thompson Seedless' table grapes clusters**

Gonzalo Nicolás Arancibia Urzúa<sup>1</sup>, Rodrigo Callejas Rodríguez<sup>2</sup>, Gabino Reginato Meza<sup>2</sup>

Originales: *Recepción:* 06/11/2014 - *Aceptación:* 23/05/2016

*Nota científica*

#### **RESUMEN**

Se evaluó el uso de reguladores de crecimiento complementarios al ácido giberélico ( $GA_3$ ), como raleadores de flores y bayas en uva de mesa 'Thompson Seedless', en las regiones de Atacama y Metropolitana, Chile. Se utilizó ácido naftalén acético (NAA), tiazurón (TDZ), y benciladenina (BA) en plena floración; y Wuxal® Ca en baya de 3-4mm. Durante la primera temporada, se prospectaron dosis de NAA: 0; 2,5; 5; 7,5; 10 y 12,5  $mg \cdot L^{-1}$ ; BA: 0; 60; 90; 120; 150 y 180  $mg \cdot L^{-1}$  y TDZ: 0; 0,5; 1; 1,5 y 2  $mg \cdot L^{-1}$ . En la segunda temporada, se probó NAA: 0; 2,5; 5 y 7,5  $mg \cdot L^{-1}$  y BA: 0; 150; 300; 450 y 600  $mg \cdot L^{-1}$ . En un tercer ensayo, se aplicó 2  $mg \cdot L^{-1}$  de NAA en floración, y posteriormente Wuxal® Ca a 18 y 36  $cm^3 \cdot L^{-1}$ , en cuaje. El NAA disminuye el número de bayas por racimo, mostrando fitotoxicidad con dosis mayores a 7,5  $mg \cdot L^{-1}$ . El TDZ no demuestra efecto raleador y BA genera racimos más compactos a mayor concentración. Wuxal® Ca aplicado después del NAA, disminuye el número de bayas por racimo, ampliando el período de raleo hasta etapas posteriores al cuaje.

#### **Palabras clave**

*Vitis vinifera* L. • raleo • floración • reguladores de crecimiento • auxinas • citoquininas

- 
- 1 Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Laboratorio de Viticultura. Avenida Santa Rosa 11315, Comuna La Pintana, Santiago, Chile. gnau.uchilecrea@gmail.com
  - 2 Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Producción Agrícola.

## ABSTRACT

In order to evaluate in the Region de Atacama and Region Metropolitana from Chile, the use of complementary thinners to the gibberellic acid ( $GA_3$ ) applied to 'Thompson Seedless' grapes. This research explored the use of naphthalene acetic acid (NAA), thidiazuron (TDZ) and benzyladenine (BA) applied to flowering plants; and Wuxal® Ca in the fruit set. During the first season, prospective assays were performed. NAA was sprayed at: 0; 2.5; 5; 7.5; 10 and 12.5  $mg\cdot L^{-1}$ ; BA tested concentrations were: 0, 60, 90, 120, 150 and 180  $mg\cdot L^{-1}$ , and TDZ concentrations were: 0; 0.5; 1; 1.5 and 2  $mg\cdot L^{-1}$ . During the second season, NAA was sprayed at 0; 2.5; 5.0 and 7.5  $mg\cdot L^{-1}$  and BA was applied at 0, 150, 300, 450 and 600  $mg\cdot L^{-1}$ . On a thirteenth trial, 2  $mg\cdot L^{-1}$  of NAA and Wuxal® Ca applied at bloom and fruit set, respectively. NAA decreased the number of berries for cluster; phytotoxicity was detected at concentration since 7.5  $mg\cdot L^{-1}$ . BA increased berry number with higher concentrations. TDZ did not show differences in thinning. Wuxal® Ca applied after NAA, decreased berry number per cluster, extending the effective period of thinning until after fruit set.

### Keywords

*Vitis vinifera* L. • thinning • bloom • plant growth regulators • auxins • cytokinins

## INTRODUCCIÓN

Las preferencias, orientadas hacia uva sin semilla, posicionan a 'Thompson Seedless' dentro de las variedades más comercializadas en el mundo, representando el 24,5% de las exportaciones chilenas en uva de mesa (2).

Sin embargo, se le reconoce como una variedad con altos requerimientos en mano de obra, y las labores del raleo constituyen el 26,7% de los costos directos (18). Así, teniendo elevados costos de producción, las ventajas competitivas de la variedad precisan opciones complementarias al raleo con ácido giberélico ( $GA_3$ ), que permitan el estándar comercialmente exigido, correspondiente a racimos de 120 a 150 bayas, según la conformación de estos.

La vid, de forma similar a otros frutales, produce abundantes flores, las que incluso con pobres condiciones de polinización originan un excedente de fruta, difícil de sustentar para la planta (1), fenómeno

frecuente en Chile, dado que no existen grandes accidentes climáticos que limiten la floración y el cuaje (20). Por tal razón, es fundamental el raleo, para remover flores y disminuir la competencia por nutrientes entre bayas del mismo u otro racimo, y así obtener un adecuado calibre de exportación.

En uva de mesa, el  $GA_3$  es el único raleador utilizado en floración a nivel comercial. Las concentraciones y el momento de aplicación son específicos, dependiendo de la región, variedad y efectos deseados en la calidad de los racimos (12), y también de factores ambientales, como temperatura, humedad relativa y luminosidad (15, 16).

Por otra parte, el uso de  $GA_3$  presenta efectos desfavorables, como inducir desgrane en pos cosecha (21), producir sabores herbáceos en la fruta y reducir la tolerancia de la planta al frío (30).

Retrasar la madurez del racimo y altas concentraciones de  $GA_3$  podrían inhibir la inducción floral, disminuyendo la fertilidad de las yemas florales en la temporada siguiente (13). Asimismo, Gandolini y Tirado (1992), determinaron que el  $GA_3$  es ineficiente en ralear flores. Similar a esto, Cuadra (1990), utilizó el  $GA_3$  para el raleo, aumentando en un 30% la caída de flores, porcentaje considerado bajo para 'Thompson Seedless'.

Para ensayos con ácido naftalén acético (NAA) en 'Carignane', muestran raleo de bayas desde los  $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , variando según el porcentaje de floración; Miele *et al.* (1978), ralearon un 40% del racimo con  $25,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de NAA, registrando alteraciones en la morfología del racimo.

Del mismo modo, Dabancens (1992), indicó que las aplicaciones de NAA en 'Thompson Seedless', posteriores a la formación del pistilo y primordios ovulares, provocan deformaciones de la arquitectura del racimo, enroscamiento del raquis y caída de bayas; algo similar fue observado en la variedad 'Zinfandel' (24).

Respecto de citoquininas sintéticas, 6-benciladenina (BA) ha sido utilizada en pomáceas por sus capacidades de raleo (15). Sin embargo, aplicaciones en uva de mesa 'Perlette' y 'Flame Seedless', durante el desarrollo inicial de la inflorescencia, no registraron raleo de frutos (31).

Además, tidiazurón (TDZ) muestra diversos efectos fisiológicos en la planta, dependiendo de la concentración, tiempo de aplicación, especie y variedad (10).

Con relación al TDZ, se ha probado para ralear frutos de manzano. No se mencionan antecedentes de TDZ como raleador en uva de mesa.

El Wuxal® Ca es un fertilizante foliar utilizado para corregir las deficiencias de calcio en frutos de manzano. En

tanto, en 'Thompson Seedless', Bustos (1995), detectó que Wuxal® Ca, produce necrosado en bayas con un diámetro menor o igual a 3 mm, surgiendo la posibilidad de usarlo como raleador tardío.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los productos evaluados en 'Thompson Seedless' fueron: NAA (NAA-800®; 20,1% de i.a.), BA (Cylex®; 1,9% de i.a.), tidiazurón (TDZ) (Splendor®; 5% de i.a.) y Wuxal® Ca. Las aplicaciones se efectuaron en plantas con el 80% de sus racimos en floración, correspondiente al Estado 25 modificado de E-L (7).

Las plantas recibieron, en plena flor, las aspersiones habituales de ácido giberélico para raleo (3 aplicaciones de  $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de  $GA_3$  cada 7-10 días). Las plantas fueron seleccionadas por similar diámetro de tronco y cobertura de follaje, y manejadas acorde con las prácticas agronómicas para fruta de exportación.

### Prospección de raleadores complementarios al ácido giberélico ( $GA_3$ ). Temporada 2009-2010

Los ensayos se ubicaron en la zona central en Buin ( $33^{\circ}44' \text{ S}$ ,  $70^{\circ}44' \text{ O}$ ) y Paine ( $33^{\circ}34' \text{ S}$ ,  $70^{\circ}41' \text{ O}$ ), Región Metropolitana; y en la zona norte de Chile (Región de Atacama): La Arena ( $28^{\circ}54' \text{ S}$ ,  $70^{\circ}16' \text{ O}$ ) y La Pampa ( $28^{\circ}59' \text{ S}$ ,  $70^{\circ}13' \text{ O}$ ).

Para el NAA, se estableció ensayos en La Pampa (28 de septiembre de 2009), Buin (19 de noviembre de 2009) y Paine (25 de noviembre de 2009).

En cada huerto, se aplicó 6 concentraciones: 0; 2,5; 5; 7,5; 10 y  $12,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , dirigidas a la planta completa, con una bomba espalda de 16 L. Se seleccionó 2 plantas por tratamiento, y 4 racimos por planta.

En La Arena, se realizó los mismos tratamientos en dos oportunidades (22 y 28 de septiembre de 2009), usando 2 plantas por tratamiento, y 2 racimos por planta.

Respecto de BA y TDZ, se realizó un ensayo en la localidad de La Arena, utilizando dos plantas por tratamiento, siendo la unidad experimental la planta, seleccionándose dos racimos al azar por planta.

Se consideró 6 concentraciones de BA: 0; 60; 90; 120; 150 y 180 mg·L<sup>-1</sup>, y cinco para TDZ: 0; 0,5; 1; 1,5 y 2 mg·L<sup>-1</sup>.

La evaluación consistió en contar el número total de bayas por racimo, una vez finalizada la caída natural de estas, correspondiente al Estado 30 modificado de E-L (bayas de 5 a 6 mm). Se realizó análisis de regresión, expresando la respuesta de raleo en función de las concentraciones del raleador.

### **Evaluación de raleadores complementarios al ácido giberélico (GA<sub>3</sub>). Temporada 2010-2011**

Se realizó dos ensayos en La Pampa. Para el primero, se asperjaron 4 concentraciones

de NAA: 0; 2,5; 5 y 7,5 mg·L<sup>-1</sup>; en el segundo, se aplicó 5 concentraciones de BA: 0; 150; 300; 450 y 600 mg·L<sup>-1</sup>.

Las aplicaciones se efectuaron a la planta completa, del mismo modo que la temporada anterior.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado para cada raleador, con 5 repeticiones de 5 plantas, seleccionando 6 racimos por cada una; la unidad experimental fue la planta.

Un tercer ensayo, en La Arena, consistió en la aplicación de 2 mg·L<sup>-1</sup> de NAA, dirigido a plantas, cuando el 80% de sus racimos estaba en floración (11 de octubre de 2011) al Estado 25 modificado de E-L (7); posteriormente se les aplicó Wuxal® Ca en días sucesivos (tabla 1), después de la caída natural de bayas, correspondiente al Estado 29 modificado de E-L (7), a través de la inmersión individual de racimos, usando un vaso plástico de 2 L.

El diseño experimental fue bloques completos al azar con 5 plantas usadas de repetición, y 2 racimos por tratamiento como unidad experimental.

**Tabla 1.** Tratamientos sobre la base de la concentración de Wuxal® Ca en cm<sup>3</sup>·L<sup>-1</sup>, aplicado en días consecutivos, a bayas con 4 mm de diámetro ecuatorial. Los tratamientos recibieron una aplicación base de 2,0 mg·L<sup>-1</sup> de NAA en floración. Temporada 2010-2011.

**Table 1.** Treatments based on the Wuxal® Ca's concentrations (cm<sup>3</sup>·L<sup>-1</sup>), applied on consecutive days, berries with 4 mm equatorial diameter. Treatments received a base application 2.0 mg·L<sup>-1</sup> NAA on bloom. Season 2010-2011.

Tratamiento	Fecha 1	Fecha 2
	20-octubre	21-octubre
0	0	0
1	18	0
2	0	18
3	18	18
4	18	36
5	36	0
6	0	36
7	36	18
8	36	36

Se evaluó la densidad de bayas (5), cuantificándose el número de bayas y largo de los hombros superior y medio del racimo.

Además, se determinó la densidad de bayas en función del diámetro de hombro superior en su inserción al raquis.

Las evaluaciones se realizaron después de la caída natural de bayas, al Estado 29 modificado de E-L (7).

En el ensayo de NAA se clasificó la apariencia del racimo mediante una escala de deformidad (figura 1). Para el tercer ensayo, se contabilizó el número total de bayas por racimo.

Se realizó un análisis de varianza y, en aquellas variables con diferencias significativas, se efectuó un test de comparación múltiple de Duncan. Se utilizó los programas computacionales MINITAB® v15.0 e InfoStat®.

Para verificar el supuesto de normalidad se utilizó la prueba de Anderson-Darling; y, para comprobar la homogeneidad de varianza se utilizó la prueba de Barlett. También se utilizó la prueba no-paramétrica de Kruskal-Wallis.

## RESULTADOS

### Temporada 2009-2010

En todas las localidades, el testigo (solo aplicación de GA<sub>3</sub>) presentó un mayor número de bayas, ratificando que el GA<sub>3</sub>, por sí solo, no logra un raleo eficaz. La aplicación adicional de NAA muestra un claro raleo, estabilizándose el efecto a partir de 7,5 mg·L<sup>-1</sup> (figura 2, pág. 6).

Por su parte, Miele *et al.* (1978) describieron racimos con menor número de bayas usando 10 y 25 mg·L<sup>-1</sup> de NAA en 'Carignane'; que es una variedad con semillas, y usándose concentraciones más altas.

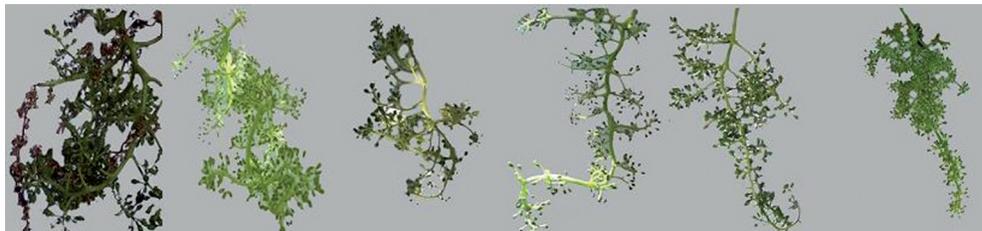
Sin embargo, se observó deformaciones en los racimos y, en algunos casos, necrosis total de estos, evidente para las concentraciones más altas (figura 3, pág. 7).

En consecuencia, el NAA facilitarían el raleo, pero induciría efectos fitotóxicos en concentraciones mayores a 7,5 mg·L<sup>-1</sup>.

Muy deforme

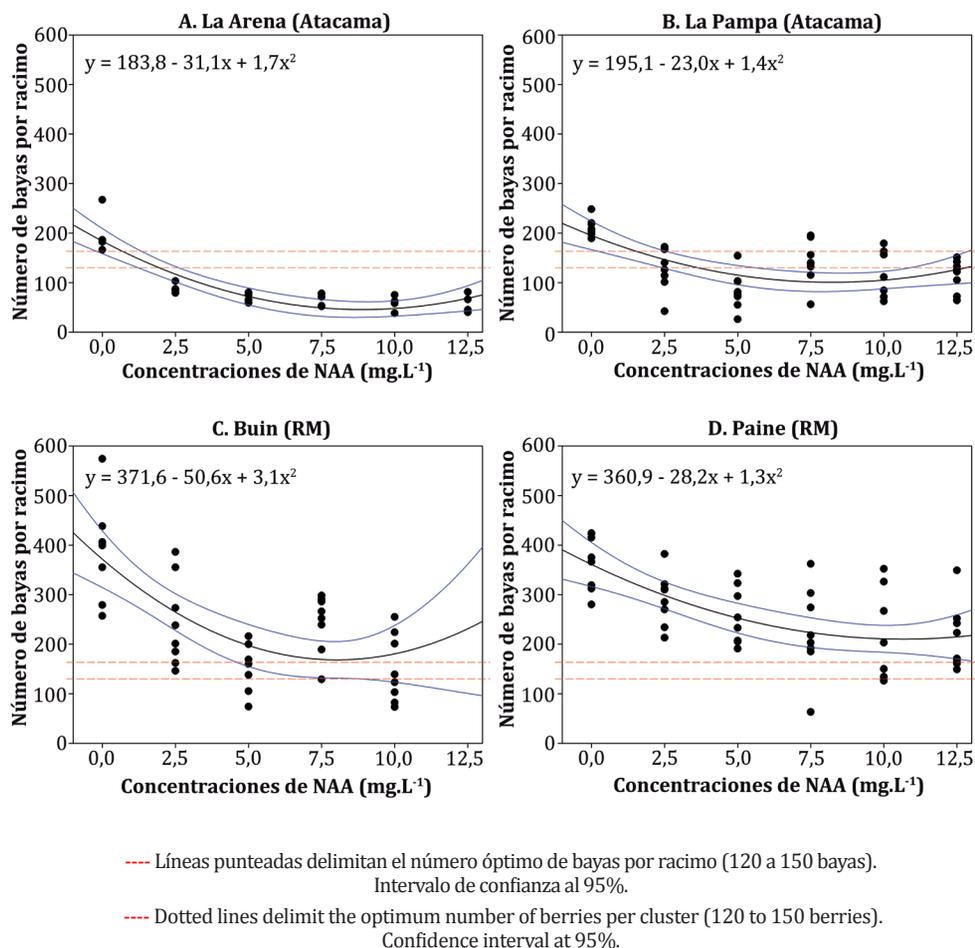
Deformidad moderada

No deforme



**Figura 1.** Escala de apariencia para evaluar deformidad en racimos de 'Thompson Seedless' para dos períodos de evaluación: 1. Bayas de 1 a 2 mm y 2.

**Figure 1.** Appearance's scale to assess clusters deformity on 'Thompson Seedless' for two evaluation periods: 1. Berries 1-2 mm and 2.



**Figura 2.** Número de bayas por racimo en función de la concentración de NAA ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) según localidad ( $p < 0,05$ ). **A**, La Arena (Atacama); **B**, La Pampa (Atacama); **C**, Buin (RM); **D**, Paine (RM). Temporada 2009-10.

**Figure 2.** Number of berries per cluster depending on the concentration of NAA ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) according to locality ( $p < 0,05$ ). **A**, La Arena (Atacama); **B**, La Pampa (Atacama); **C**, Buin (RM); **D**, Paine (RM). Season 2009-10.



**Figura 3.** Deformidad de racimo provocada por ácido naftalén acético a  $7,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

**Figure 3.** Cluster deformity caused by naphthalene acetic acid at  $7.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Por otra parte, la localidad tendría un efecto, observándose un mayor raleo en la Región de Atacama (zona norte de Chile), incluso en las concentraciones más bajas de NAA (figuras 2A y 2B, pág. 6).

En La Pampa (figura 2B, pág. 6), el raleo con  $2,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  obtuvo un número de bayas cercano al requerido para la variedad (120 a 150 bayas); y en La Arena (figura 2A, pág. 6), donde se aplicó dos veces el NAA, los racimos estuvieron por debajo del número óptimo de bayas, observándose racimos con menos de 100 bayas. De hecho, las concentraciones de  $10,0$  y  $12,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de NAA, generaron racimos completamente malos, con solo 40 bayas (figura 2A, pág. 6).

En tanto, en la Región Metropolitana, el raleo fue insuficiente, generándose racimos con un número de bayas superior al máximo exigido comercialmente en uva de mesa (figuras 2C y 2D, pág. 6).

Si bien los ensayos estuvieron caracterizados por alta dispersión de los datos, solo en el caso de Buin, con  $5,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de

NAA, se obtendría un número de bayas aparentemente óptimo; el resto de los tratamientos presentaron ya sea un exceso o una carencia de bayas.

La fisiología, productividad y ciclo fenológico de las plantas depende de las condiciones climáticas. Por lo tanto, el efecto del NAA, junto con influenciarse por el momento de aplicación y las concentraciones, también respondería a la interacción entre temperatura y humedad relativa (10). El cuaje de bayas es limitado con temperaturas superiores a  $33^\circ\text{C}$  durante floración, inhibiendo al crecimiento del tubo polínico y reduciendo la fecundación del óvulo (12).

Además, sobre los  $30^\circ\text{C}$  las hojas disminuyen fuertemente su fotosíntesis (20), ocasionando un menor suministro de carbohidratos hacia los frutos en formación, lo cual provocaría la caída de algunas bayas. A su vez, las recomendaciones de etiqueta del NAA (Fruitone N, Amvac Chemical Corp., Los Angeles) indican como rango óptimo de temperaturas desde  $21,1$  a  $23,9^\circ\text{C}$ , para manzanos.

En la Región Metropolitana, durante el período de aplicación, la temperatura media es de  $15,8^\circ\text{C}$  y la humedad relativa (HR) promedio de  $67\%$  (23).

Asimismo, en la temporada evaluada, la temperatura no excedió los  $30^\circ\text{C}$ , condiciones meteorológicas que explicarían el menor grado de raleo.

Por el contrario, en la Región de Atacama, las aplicaciones coinciden con temperaturas altas y HR bajas, permitiendo mayor efecto del NAA como raleador; en La Arena y La Pampa se registraron temperaturas en floración sobre los  $30^\circ\text{C}$ , llegando incluso a los  $40^\circ\text{C}$  y la HR no sobrepasó el  $50\%$  (22).

Algunos estudios mencionan el efecto de las temperaturas y HR en la respuesta

de la planta. Por ejemplo, en tomates, se reportó mayor absorción de NAA y una sobre respuesta con incrementos de la temperatura (17). A su vez, la HR, influye en el tiempo de secado del NAA después de su aplicación como raleador en manzano (28).

Con respecto a los otros reguladores de crecimiento, TDZ no raleó (figura 4), y no se presentó un efecto significativo del número de bayas.

Por otra parte, con BA (figura 5), se detectaron menos bayas cuajadas al incrementar su concentración, con una relación no significativa, existiendo gran dispersión de los datos.

Algunos autores, asociarían a las citoquininas sintéticas con el cuaje en uva de mesa (5, 26), y similares resultados obtuvieron Weaver *et al.* (1962), quienes no encontraron diferencias en

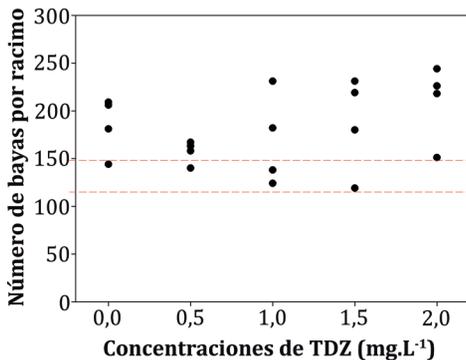
cuaje al aplicar hasta  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de BA en plena floración en las variedades Pinot Chardonnay, Grenache y Muscat.

Pese a que los resultados no son claros, tanto con BA como TDZ, no se detectó efectos fitotóxicos sobre los racimos.

### Temporada 2010-2011

Con la aplicación de NAA se encontró diferencias significativas entre los tratamientos, disminuyendo la densidad de bayas por racimo al aplicar  $7,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de NAA (tabla 2, pág. 6), y aproximándose a una densidad óptima de máximo 2 bayas por centímetro de largo de hombro.

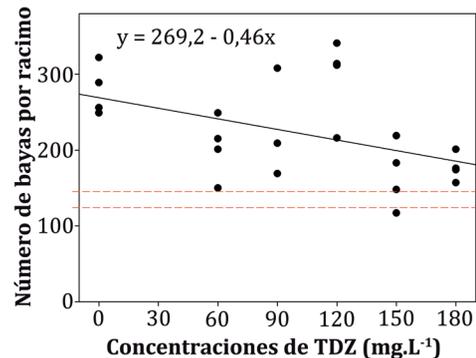
La densidad de bayas en términos de diámetro del hombro superior en su inserción al raquis, también presentó menor número de bayas con  $7,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de NAA (tabla 3, pág. 9).



--- Líneas rojas delimitan el número óptimo de bayas por racimo (120 a 150 bayas).  
 --- Red lines delineate the optimal number of berries per cluster (120 to 150 berries).

**Figura 4.** Número de bayas por racimo en función de la concentración de TDZ ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) ( $p < 0,05$ ).

**Figure 4.** Berries of number per cluster depending TDZ concentration ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) ( $p < 0.05$ ).



--- Líneas rojas delimitan el número óptimo de bayas por racimo (120 a 150 bayas).  
 --- Red lines delineate the optimal number of berries per cluster (120 to 150 berries).

**Figura 5.** Número de bayas por racimo en función de la concentración de BA ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) ( $p < 0,05$ ).

**Figure 5.** Number of berries per cluster depending on the concentration of BA ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 2.** Densidad de bayas en uva 'Thompson Seedless' evaluado en hombro superior del racimo con 80% de bayas en diámetros ecuatoriales de 4 a 5 mm. La Pampa.

**Table 2.** Berry density in 'Thompson Seedless', evaluated at the upper shoulder on clusters with 80% of berries in equatorial diameter 4-5 mm. La Pampa.

Tratamiento	Densidad de bayas
mg.L <sup>-1</sup> NAA	bayas/cm de hombro
T0 (0)	2,5 a <sup>(a)</sup>
T1 (2,5)	2,2 a
T2 (5,0)	2,1 ab
T3 (7,5)	1,5 b

<sup>(a)</sup> Valores con letras distintas indican diferencias significativas según la prueba de comparación múltiple de Duncan ( $p < 0,05$ ); n. s. no significativo a  $p < 0,05$ .

<sup>(a)</sup> Values with different letters indicate significant differences according to the multiple comparison test of Duncan ( $p < 0.05$ ); n. s. not significant at  $p < 0.05$ .

**Tabla 3.** Densidad de bayas en función del diámetro del hombro superior en uva 'Thompson Seedless' tratada con diferentes concentraciones de NAA en floración.

**Table 3.** Berries density in 'Thompson Seedless' depending of the diameter upper shoulder treated with different NAA concentrations in bloom.

Tratamiento	Densidad de bayas
mg.L <sup>-1</sup> NAA	bayas/mm de hombro
T0 (0)	10,2 a <sup>(a)</sup>
T1 (2,5)	8,4 a
T2 (5,0)	7,2 ab
T3 (7,5)	4,1 b

<sup>(a)</sup> Valores con letras distintas indican diferencias significativas según la prueba de comparación múltiple de Duncan ( $p < 0,05$ ), utilizando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis; n. s. no significativo a  $p < 0,05$ .

<sup>(a)</sup> Values with different letters indicate significant differences according to the multiple comparison test of Duncan ( $p < 0.05$ ) using the nonparametric Kruskal-Wallis test; n. s not significant at  $p < 0.05$ .

Por lo tanto, podría ser un buen índice para evaluar el raleo en ensayos posteriores.

Respecto de la apariencia de los racimos, se registraron deformaciones leves en la parte distal del racimo con 2,5 y 5,0 mg·L<sup>-1</sup> de NAA, que debido al arreglo manual de racimos, no fueron detectadas a cosecha. Sin embargo, hubo mayor deformación de racimos a 7,5 mg·L<sup>-1</sup> (tabla 4), descartándose el uso de NAA a esa concentración, debido a estos efectos colaterales negativos.

**Tabla 4.** Proporción de los racimos deformes en uva 'Thompson Seedless' evaluado cuando el 80% de las bayas presentaron diámetro ecuatorial de 4 a 5 mm.

**Table 4.** Proportion of deformed clusters in 'Thompson Seedless' assessed when 80% of the berries showed equatorial diameter of 4-5 mm.

Tratamiento	Racimos deformes
mg.L <sup>-1</sup> NAA	%
T0 (0)	0,0
T1 (2,5)	13,3
T2 (5,0)	10,7
T3 (7,5)	56,7

n: número de racimos evaluados (30).  
number of clusters (30).

Contreras (1995), también detectó fitotoxicidad en racimos de 'Thompson Seedless' asperjados durante plena floración con 15 a 30 mg·L<sup>-1</sup> de NAA; al igual que lo reportado por Miele *et al.* (1978), para 'Carignane', con 10 y 25 mg·L<sup>-1</sup> de NAA, y Weaver (1963), con 10 mg·L<sup>-1</sup> de NAA en 'Zinfandel'.

Dado estos resultados, los futuros estudios deben evaluar la aplicación de 2,5 mg·L<sup>-1</sup> de NAA, un 50% de los racimos lograrían el número de bayas objetivo (120-150 bayas).

Además, en nuevos ensayos, se deben incluir evaluaciones acerca de la forma y el tamaño del racimo, dado que se presentan variaciones entre temporadas, dentro o entre plantas. Por ejemplo, los racimos presentan diferencias en número de bayas y largo de hombros según la ubicación de la yema en el cargador (4), condicionando el tipo de raleo a efectuarse.

Respecto de BA (La Pampa), al aumentar su concentración, el cuaje de bayas fue superior al testigo (figura 6), ya sea en la densidad del hombro superior ( $R^2 = 0,77$ ) como en el hombro medio ( $R^2 = 0,72$ ), descartándose el uso de BA en el raleo de bayas.

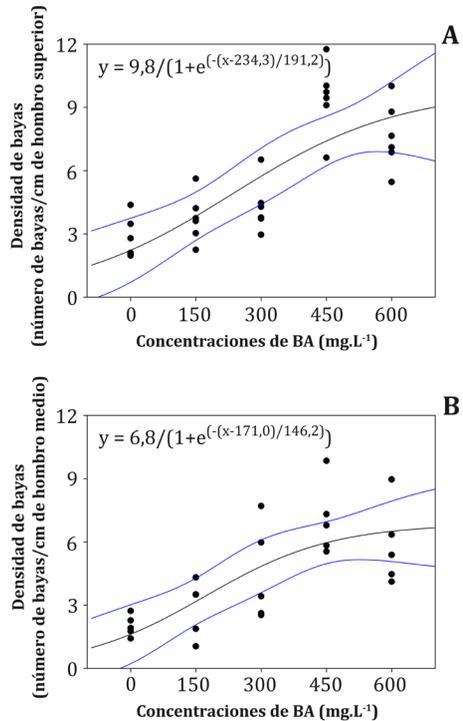
Esto plantea la hipótesis que altas concentraciones de BA, aumentarían el cuaje de bayas, disminuyen el raleo natural en vid, e inhiben el efecto del  $GA_3$ . Estos resultados, serían relevantes validarlos en variedades susceptibles al "corrimiento" de racimos, como Carménère, Merlot o Moscatel.

También se registró incremento del número de bayas cuajadas con  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de BA aplicado en plena floración en 'Carignane' (16), en un rango de dosis de BA que prácticamente no mostró efectos bajo las condiciones de este ensayo. Al respecto, Weaver *et al.* (1966), y Considine (1983), indican que las citoquininas promoverían el cuaje de casi todos los ovarios en un racimo.

En términos de apariencia de los racimos (figura 7, pág. 11), sería desfavorable, puesto que mayor compactación implica una mayor intervención manual del racimo para mejorar la presentación de la fruta, lo cual se contrapone con el objetivo principal de este ensayo.

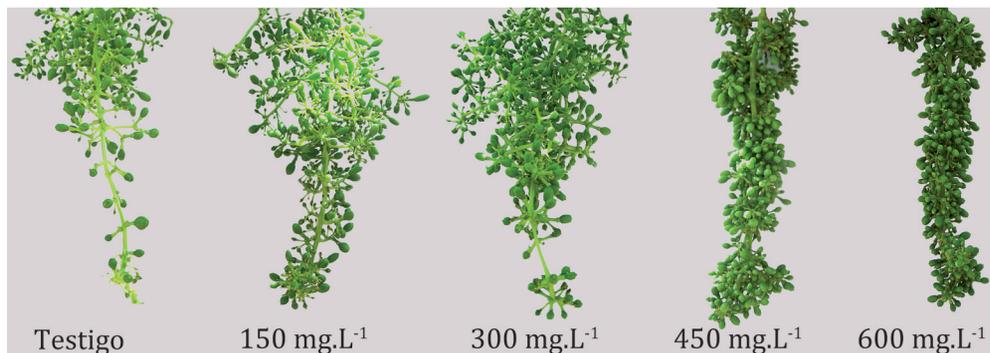
Para NAA con post-aplicación de Wuxal® Ca, se produjo el "quemado" de bayas con diámetro menor a 4 mm. Esto concuerda con experiencias de terreno no

evaluadas extensivamente que utilizaron Wuxal® Ca para mejorar la firmeza de bayas, obteniéndose como resultado el raleo de bayas.



**Figura 6.** Densidad de bayas (bayas / cm de hombro) en función de la concentración de BA aplicado en floración ( $p < 0,05$ ), y evaluado en bayas de 5 mm. **A.** Hombro superior. **B.** Hombro medio. La Pampa. Temporada 2010-11. Intervalo de confianza al 95%.

**Figure 6.** Berry density (berries / shoulder cm) depending on the concentration of BA applied to flowering ( $p < 0.05$ ), and evaluated on berries of 5 mm. **A.** Top shoulder. **B.** Medium shoulder. La Pampa. Season 2010-11. Confidence interval at 95%.



**Figura 7.** Densidad de bayas para racimos tratados con diferentes concentraciones de BA. La Pampa. Temporada 2010-2011.

**Figure 7.** Berry density for clusters treated with different BA concentrations. La Pampa. Season 2010-2011.

Así, la inclusión de Wuxal® Ca, extendería el período de raleo químico hasta después del cuaje, contrario a lo indicado por Weaver y Pool (1971), quienes consideraron poco prácticas las aplicaciones pos cuaje, independiente del raleador utilizado.

Pese a no obtenerse la densidad óptima de 2 bayas por cm de hombro, el uso de Wuxal® Ca redujo el número de bayas por racimo significativamente (tabla 5, pág. 12), destacándose T1 y T3 dentro del rango adecuado (120-150 bayas). A su vez, se apreció una disminución significativa en la densidad de bayas del hombro medio (tabla 5, pág. 12). Estos resultados son relevantes, puesto que actualmente solo se utiliza GA<sub>3</sub> para raleo en la floración.

La densidad de bayas del hombro superior no mostró menor número de bayas (tabla 5, pág. 12). Esto se podría explicar por los diferentes estados fenológicos al momento de aplicar NAA y Wuxal® Ca. El desarrollo de las flores no es sincrónico, abriéndose primero, las flores de la parte

basal del racimo y prolongando la floración en 8 a 10 días (29). También, la misma planta presentará racimos en diferentes estados de desarrollo.

Así, los frutos que primero cuajan, dominarían a los frutos más tardíos, siendo parte del proceso denominado en manzanos como "inhibición correlativa" (1), reduciendo la disponibilidad de nutrientes en las bayas más retrasadas en desarrollo, provocando la caída de estas. De lo anteriormente señalado, se plantea que, bajo las condiciones del ensayo, el Wuxal® Ca ejerció un "quemado" solo de las bayas más retrasadas en desarrollo, ubicadas en la parte distal del racimo.

Las incorporaciones de NAA y Wuxal® Ca, mostraron resultados que, mejorarían las aplicaciones comerciales con GA<sub>3</sub>. Por lo cual, se recomienda seguir utilizando 18 cm<sup>3</sup>·L<sup>-1</sup> de Wuxal® Ca, siendo la menor concentración probada.

Sin embargo, la respuesta al raleo es variable, y antes de generalizar un tratamiento es aconsejable probar, por lo menos durante una temporada, dosis y fechas de aplicación en varios lugares.

**Tabla 5.** Densidad de bayas en hombro superior (HS) y hombro medio (HM), y número de bayas por racimo, evaluado con bayas con 7 mm de diámetro ecuatorial, una semana después de aplicar diferentes concentraciones de Wuxal® Ca en uva 'Thompson Seedless'. La Arena. Temporada 2010-11.

**Table 5.** Berry density on top shoulder (HS) and medium shoulder (HM), and number of berries per cluster, evaluated berries with equatorial diameter of 7 mm, a week after applying different concentrations of Wuxal® Ca in 'Thompson Seedless'. La Arena. Season 2010-11.

Tratamiento Wuxal® Ca (cm <sup>3</sup> ·L <sup>-1</sup> ) <sup>(a)</sup>	Densidad de bayas/ cm de hombro		N° de bayas/ racimo
	HS	HM	
T0 (0-0)	4,9 n.s. <sup>(b)</sup>	3,9 a <sup>(b)</sup>	274,7 a <sup>(b)</sup>
T1 (18-0)	4,3	2,7 abc	142,7 b
T2 (0-18)	3,7	2,9 bc	103,0 bc
T3 (18-18)	4,2	4,0 ab	134,7 b
T4 (18-36)	3,1	3,4 ab	126,7 bc
T5 (36-0)	3,8	2,4 abc	97,0 bc
T6 (0-36)	2,6	1,8 c	64,5 c
T7 (36-18)	3,9	2,1 bc	91,3 bc
T8 (36-36)	4,4	2,0 abc	117,0 bc

<sup>(a)</sup> Entre paréntesis se indica la concentración utilizada de Wuxal® Ca, para el primer y segundo día de aplicación, en baya de 3 a 4 mm de diámetro ecuatorial. <sup>(b)</sup>Valores con letras distintas indican diferencias significativas según la prueba de comparación múltiple de Duncan ( $p < 0,05$ ); n. s. no significativo a  $p < 0,05$ .

<sup>(a)</sup> Todos los tratamientos recibieron una aplicación de 2,0 mg·L<sup>-1</sup> de NAA en floración.

<sup>(a)</sup> In parentheses, the concentration used for Wuxal® Ca, for the first and second day of application, berry 3-4 mm of equatorial diameter. <sup>(b)</sup> Values with different letters indicate significant differences according to the multiple comparison test of Duncan ( $p < 0.05$ ); n. s. not significant at  $p < 0.05$ .

<sup>(a)</sup> All treatments received an application of 2,0 mg·L<sup>-1</sup> NAA in bloom.

## CONCLUSIONES

De acuerdo con las condiciones en que se realizaron los ensayos, se puede concluir que el NAA en concentraciones superiores a 7,5 mg·L<sup>-1</sup> ralea inadecuadamente los racimos, ya que produce fitotoxicidad en la morfología de estos. Asimismo, provocan raleo excesivo de bayas, obteniéndose racimos de una categoría no exportable.

Las concentraciones que deben ser evaluadas, como complemento al

GA<sub>3</sub>, se encuentran en el rango de 2,5 a 5,0 mg·L<sup>-1</sup> de NAA.

Respecto de las citoquininas sintéticas, es posible concluir que el TDZ aplicado en floración, en complemento al GA<sub>3</sub>, no ralea bayas en 'Thompson Seedless'.

BA aplicado en floración aumenta el número de bayas cuajadas en racimos de 'Thompson Seedless'.

Respecto de la aplicación de ácido naftalén acético y posterior aplicación de Wuxal® Ca, se puede concluir que Wuxal® Ca aplicado en cuaje, después de NAA, disminuye el número de bayas por racimo en 'Thompson Seedless'.

El Wuxal® Ca produce "quemado" de bayas de diámetro ecuatorial inferior a 4 mm.

Las aplicaciones de NAA y Wuxal® Ca, permiten ampliar el período de raleo químico de vides Thompson Seedless hasta etapas posteriores al cuaje.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bangerth, F. 2000. Abscission and thinning of young fruit and their regulation by plant hormones and bioregulators. *Plant Growth Regulation*. 31: 43-59.
2. Bravo, J. 2013. Uva de mesa: Se ratifica liderazgo exportador mundial de Chile. Oficina de estudios y políticas agrarias (ODEPA). Disponible en: <http://www.odepa.gob.cl>.
3. Bustos, C. 1995. Efectos de aspersiones de compuestos con aporte de calcio sobre la calidad de uva Sultanina. Memoria de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 59 p.
4. Callejas, R.; Benavente, M.; Toro, B.; Peppi, C. 2013. Adaptación de la poda y ajuste de carga para maximizar los rendimientos de uva de mesa. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina*. 45(2): 129-139.
5. Considine, J. A. 1983. Concepts and practice of use of plant growth regulating chemicals in viticulture. In: Nickell, L. G. (ed.) *Plant regulators chemicals*. CRC Press Inc., Florida, EE. UU. p. 91-169.
6. Contreras, J. 1995. Efectos del NAA sobre el desgrane en uva de mesa cv. Sultanina. Memoria de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 73 p.
7. Coombe, B. G. 1995. Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Australian journal of grape and wine research*. 1: 100-110.
8. Cuadra, J. 1990. Aplicación de ácido giberélico y ethephon en floración, para o en los cvs. Sultanina (Thompson Seedless) y Flame Seedless. Tesis de Grado. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía. Santiago, Chile. 34 p.
9. Dabancens, I. C. 1992. Desarrollo del pistilo y del fruto de la vid en respuesta a auxinas. Tesis de Grado. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía. Santiago, Chile. 59 p.
10. Deis, L.; de Rosas, M. I.; Malovini, E.; Cavagnaro, M.; Cavagnaro, J. B. 2015. Impacto del cambio climático en Mendoza. Variación climática en los últimos 50 años. Mirada desde la fisiología de la vid. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina*. 47(1): 67-92.
11. Do Amarante, C. V. T.; Ernani, P. R.; Blum, L. E. B.; Megguer, C. A. 2002. Thidiazuron effects on shoot growth, return bloom, fruit set and nutrition of apples. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 37(10): 1365-1371.
12. Dokoozlian, N. K. Plant growth regulator use for table grape production in California. In: N. K. Dokoozlian (ed.). *Proc. Univ. of California Table Grape Production Short Course*, Visalia, California. EE. UU. 30. p. 200-210.
13. Dokoozlian, N. K.; Peacock, W. L. 2001. Gibberellic acid applied at bloom reduces fruit set and improves size of 'crimson seedless' table grapes. *Hort Science*. 36: 706-709.
14. Gandolini, A.; Tirado, R. 1992. Influencia del ácido giberélico sobre el raleo y crecimiento de bayas en el cv. Thompson Seedless. Tesis de Grado. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía. Santiago, Chile. 78 p.

15. Greene, D. W. 1989. Regulation of fruit set in tree fruits with plant growth regulators. *Acta Horticulturae*. 239: 323-334.
16. Kliewer, W.; Roubelakis, P. 1976. Influence of light intensity and growth regulators on fruit set and ovule fertilization in grape cultivars under low temperatures conditions. *American journal of enology and viticulture*. 32: 47-63.
17. Knoche, M.; Bukovac, M. J. 2001. Finite dose diffusion studies: III. Effects of temperature, humidity and deposit manipulation on NAA penetration through isolated tomato fruit cuticles. *Pest Management Science*. 57: 737-742.
18. Miele, A.; Weaver, R. J.; Johnson, J. O. 1978. Effect of application of naphthaleneacetic acid on berry thinning of Carignane grapes. *Vitis*. 17: 369-376.
19. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). 2013. Ficha técnico-económica. Región de O' Higgins. Uva de mesa. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. Santiago, Chile. Disponible en: <http://www.odepa.gob.cl>.
20. Razeto, B. 2006. Para entender la fruticultura. 4º edición, Ediciones Bruno Razeto. Santiago, Chile. 518 p.
21. Razeto, B.; Espinoza, J. 1990. Efecto del ácido giberélico y su forma de aplicación sobre las yemas y frutos de vid cv. Sultanina. *Investigación Agrícola*. 10: 13-20.
22. Salazar, M. 2012. Efectos del viento en aspectos de crecimiento vegetativo fisiológicos y productivos en plantas de uva de mesa cultivar Thompson Seedless. Tesis de Magister. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 69 p.
23. Santibáñez, F.; Uribe, J. M. 1990. Atlas agroclimático de Chile: Regiones V y Metropolitana. Editorial Universitaria. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 65p.
24. Weaver, R. J. 1963. Experiments on thinning grapes with alpha naphthaleneacetic acid and dinitro-sec-butylphenol. *Vitis*: 1-10.
25. Weaver, R. J.; Mccune, S. B.; Hale, C. R. 1962. Effect of plant regulators on set and berry development in certain seedless and seeded varieties of *Vitis vinifera* L. *Vitis*. 3: 84-96.
26. Weaver, R. J.; Van Overbeek, J.; Pool, R. M. 1966. Effect of kinins on fruit set and development in *Vitis vinifera*. *Hilgardia*. 37: 181-201.
27. Weaver, R. J.; Pool, R. M. 1971. Chemical thinning of grape clusters. *Vitis*. 10: 201-209.
28. Williams, K. M.; Fallahi, E. 1999. The effects of exogenous bioregulators and environment on regular cropping of apple. *Hort Technology*. 9: 323-327.
29. Winkler, A. J. 1974. General viticulture. University of California, Davis. 710 p.
30. Zabadal, T. 2002. Growing table grapes in a temperate climate. Extension bulletin. Michigan State University Extension. Michigan, EE. UU. 44 p.
31. Zepeda, M.; Hernandez, A.; Vidal-Lezama, E.; Holguín, R.; Díaz, D. 2006. Effects of the applications of cytokinin bioregulators on inflorescence development of table grapes. *Acta Horticulturae*. 727: 295-298.

# Índice de sitio en plantaciones de *Cedrela odorata* en el trópico húmedo de México

## Site index for *Cedrela odorata* in the humid tropics of Mexico

Yazmín Murillo-Brito <sup>1</sup>, Marivel Domínguez-Domínguez <sup>2\*</sup>, Pablo Martínez-Zurimendi <sup>3,4</sup>, Luz del C. Lagunes-Espinoza <sup>2</sup>, Arnulfo Aldrete <sup>5</sup>

Originales: *Recepción*: 02/12/2014 - *Aceptación*: 11/06/2016

### RESUMEN

Los silvicultores de la zona tropical húmeda de México requieren orientación sobre los tratamientos que deben aplicar a sus plantaciones de *Cedrela odorata* y el crecimiento que pueden obtener, para lo cual se realizó el presente trabajo en 22 plantaciones en Tabasco. Los objetivos fueron desarrollar un modelo para determinar el índice de sitio a través de expresiones algebraicas que modelen el crecimiento en altura dominante con la edad de los árboles; y determinar el crecimiento medio anual en volumen de madera de los rodales a la edad de 10 años, para relacionar el índice de sitio con la producción esperada. De los cinco modelos probados, Hossfeld IV obtuvo mejor bondad de ajuste con base en los estadísticos de eficiencia, MRES, AMRES, análisis de residuales y análisis gráfico del ajuste a los datos observados. El modelo es eficiente entre 4 y 12 años de edad. Se establecieron tres clases de índice de sitio: 11 m para calidad baja, 15 m para calidad media y 19 m para calidad alta a una edad base de 10 años. El crecimiento de los árboles estuvo comprendido entre 1,40 en la menor calidad y 21,65 m<sup>3</sup>·ha<sup>-1</sup>·año<sup>-1</sup> en la mayor calidad a los 10 años.

### Palabras clave

índice de sitio • producción maderable • manejo forestal

- 
- 1 Programa docente de Postgrado en Producción Agroalimentaria en el Trópico del Campus Tabasco del Colegio de Postgraduados.
  - 2 Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco, Perif. Carlos A. Molina km 3,5 Carr. Cárdenas-Huimanguillo, A.P. 24. C.P. 86500 H. Cárdenas, Tabasco, México. \*mdguez@colpos.mx
  - 3 El Colegio de la Frontera Sur, Grupo Académico Agroecología, Villahermosa, Tabasco. México.
  - 4 Sustainable Forest Management Research Institute Universidad de Valladolid, E. T. S. de Ingenierías Agrarias. Depto. Prod. Veg. Recursos Forestales. Avda. de Madrid, No. 50. 34004. Palencia, España.
  - 5 Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Montecillo, Km 36,5 Carr. México- Texcoco. Montecillos, Estado de México. C.P. 56230

## ABSTRACT

Foresters of the humid tropical zone of Mexico require direction regarding what treatments they should apply to their plantations of *Cedrela odorata* and the growth rates they can obtain. For this reason, the present study was conducted in 22 plantations in Tabasco, Mexico. The objectives were to develop a model to determine site index through algebraic expressions that model the dominant height growth with tree age, and to determine the mean annual growth in volume of timber in ten-year-old stands, in order to relate the site index to expected production. Of the five models tested, Hossfeld IV obtained the best goodness of fit based on statistics of efficiency, MRES, AMRES, residual analysis and graphic analysis of fit to the observed data. Model is efficient between 4 and 12 years age plantation. Three classes of site index were established: 11 m for low quality, 15 m for medium quality and 19 m for high quality at a base age of ten years. Tree growth comprised between 1.40 and 21.65 m<sup>3</sup>•ha<sup>-1</sup>•year<sup>-1</sup> at ten years in the lowest and highest qualities, respectively.

### Keywords

site index • wood yield • forest management

## INTRODUCCIÓN

El rendimiento de una plantación depende, en gran parte, de la capacidad productiva del sitio seleccionado, de la preparación del sitio y del manejo que se le dé a la misma.

En algunos sitios los árboles crecerán rápidamente alcanzando grandes volúmenes en poco tiempo, mientras que en otros, el crecimiento será menor o muy pobre.

La capacidad productiva de un determinado lugar para una especie en particular se conoce como calidad de sitio, definida por un complejo de factores bióticos y abióticos, resultado de la interacción de los factores ambientales y la vegetación existente, también influida por el manejo silvícola aplicado (29).

La calidad de sitio se expresa a través de un índice de sitio que es una expresión cuantitativa de la calidad de sitio (1).

El índice de sitio se define como la altura dominante que pueden alcanzar los árboles de un rodal a una edad de referencia, la cual

se toma como edad base (8, 9, 24), siendo uno de los métodos más usados para expresar de manera indirecta la calidad de sitio en masas coetáneas, preferentemente puras, con base en relaciones de datos de altura dominante -edad.

Existen algunos estudios de determinación de índices de sitio en plantaciones de *Cedrela odorata* L. (cedro rojo) en México: García-Cuevas *et al.* (2007) determinaron el índice de sitio en ocho plantaciones en Quintana Roo; Bravo-Medel (2007) en plantaciones de cedro y caoba (*Swietenia macrophylla* King) en Oaxaca; Galán-Larrea, *et al.* (2008) en plantaciones de enriquecimiento y Quintero-Castañeda (2005) en plantaciones puras en Oaxaca; y Salazar-García *et al.* (2012) en plantaciones jóvenes en Veracruz.

Para la especie se han desarrollado índices de sitio en otros países de África y de América tropical: Dupuy y Mille (1993) desarrollaron una tabla de producción

que incluye determinación del índice de sitio en plantaciones de Costa de Marfil; Chagoya y Vallejo (2003) ponen a disposición de los silvicultores de los países de Latinoamérica y el Caribe unas relaciones fundamentales que facilitan la simulación de decisiones silvícolas en *Cedrela odorata* (edades e intensidades adecuadas para raleos y aclareos, elección del turno etc.); Vega-Condori (1974) establece mediciones del crecimiento en Surinam proponiendo 35 años como edad de corta.

*Cedrela odorata* puede ser muy demandante en cuanto a sus requisitos de suelo, aunque crece en diferentes ambientes.

En las Antillas y Bahamas se le puede encontrar de manera común en arcillas derivadas de piedra caliza (12), y crece también en sitios bien drenados sobre suelos ácidos derivados de rocas volcánicas (Ultisoles). En México y América Central es común en suelos bien drenados.

La fertilidad del suelo puede ser también importante, ya que se ha encontrado que crece mejor en suelos enriquecidos con restos quemados del bosque secundario.

Los suelos de mayor fertilidad permiten un mejor crecimiento de los individuos (20).

El cedro se desarrolla en una amplia variedad de climas, hallándose en las fajas latitudinales cálidas, mayormente en los trópicos libres de heladas, aunque se ha encontrado en las latitudes 26° N y 28° S, donde se pueden esperar heladas ligeras ocasionales.

Se desarrolla mejor en climas con una estación seca marcada de 2 a 5 meses de duración. Presenta mayor crecimiento bajo una precipitación anual de 1200 a 2400 mm, aunque tolera precipitaciones entre 1000 y 3500 mm (12).

Esta especie está distribuida en selvas y pastizales arbolados de México, Centroamérica, Caribe, Bahamas y en todos los países de Sudamérica, excepto Chile y Uruguay (14, 25).

La buena calidad de su madera ha puesto en riesgo sus poblaciones naturales (está incluida en el apéndice III de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres) y ha promovido su utilización en plantaciones en casi todos los países de América y en muchos de África Tropical (16).

Cada sitio tiene diferente potencial de producción en función del clima y el suelo (31); de acuerdo con lo anterior las plantaciones de *Cedrela odorata* presentan crecimiento acorde a la calidad de sitio en los ambientes estudiados, lo que facilita la construcción de curvas de índice de sitio.

## Objetivos

Desarrollar un modelo que permita determinar la calidad del sitio a través de expresiones algebraicas que modelen el crecimiento en altura dominante con base en la edad de los árboles, así como determinar el crecimiento medio anual en volumen de madera de los rodales a la edad de 10 años, para relacionar el índice de sitio con el crecimiento.

La aportación de este estudio es que se podrá aplicar en plantaciones de cedro en zonas de mayores precipitaciones y crecimientos que las analizadas por García-Cuevas *et al.* (2007) y con un mayor rango de edades que el analizado por Bravo-Medel (2007), Galán-Larrea *et al.* (2008), Quintero-Castañeda (2005) y Salazar-García *et al.* (2012).

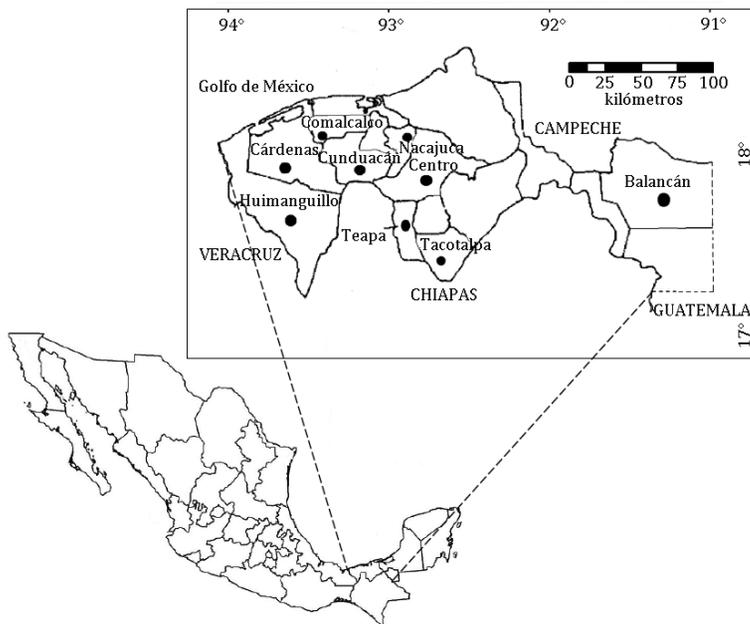
## MATERIALES Y MÉTODOS

### Datos utilizados, instalación e inventario de parcelas

En la selección de las plantaciones de *Cedrela odorata* se buscó obtener una muestra representativa de edades, densidades y calidades de sitio; para ello, se analizó la red de parcelas permanentes, creciendo en suelo arcilloso, franco arcilloso y franco arcilloso-arenoso en nueve municipios (Balancán, Centro, Cárdenas, Comalcalco, Cunduacán, Huimanguillo, Nacajuca, Tacotalpa y Teapa) del Estado de Tabasco, México (figura 1). Se consideraron 22 plantaciones con coordenadas al Norte 18°39' N, y al Sur 17°19' N; al Este 91°57' O y al Oeste 94°08' O (22).

La temperatura media anual oscila alrededor de 26°C y las precipitaciones anuales superan los 2000 mm. Existe un período de sequía entre los meses de febrero y mayo.

El manejo silvícola aplicado en estas plantaciones fue: en las plantaciones mayores de 4 ha, fertilización en los primeros tres años, generalmente triple 17 (fertilizante que aporta nitrógeno 17%, fósforo 17% y potasio 17%); en plantaciones de menor superficie generalmente no se aplicó fertilización. La intensidad de deshierbes varió, en la mayoría de las plantaciones se realizó deshierbe manual, en otras, la maleza había llegado a competir fuertemente con los árboles.



**Figura 1.** Localización de plantaciones de *C. odorata* en el estado de Tabasco, México.

**Figure 1.** Location of plantations of *C. odorata* in the state of Tabasco, Mexico.

No se pudo evaluar la influencia de estas diferencias en el manejo sobre el índice de sitio.

No se aplicaron aclareos. Solo se realizó poda de formación o fitosanitaria en árboles jóvenes.

Las mediciones se hicieron en parcelas de 100 árboles para densidades de hasta 3×3 m, y de 1.000 m<sup>2</sup> para espaciamientos mayores, siguiendo la metodología definida por el programa de seguimiento de plantaciones MIRASILV (36); se realizó en coordinación con la COMESFOR (Comisión Estatal Forestal) en Tabasco en los años 2003, 2004, 2005. Cada año se midieron 77 parcelas y en el año 2007 se midieron 10 de las parcelas anteriores.

El tamaño medio de las plantaciones es 8,7 ha (52,4% menores de 5 ha, 19% entre 6 y 10 ha, y 28,6% mayores de 10 ha).

En cada plantación, de acuerdo con su extensión, se establecieron de 1 a 10 parcelas (3,5 en promedio), conforme a la metodología de MIRASILV (36).

Las parcelas estaban conformadas cada una por 81 árboles en promedio, 283,5 árboles en cada plantación siendo un total de 6.237 árboles medidos.

En cada parcela se registró la superficie y la fecha de plantación.

De cada árbol incluido en la parcela se midió el diámetro normal a la altura de 1,30 m ( $d$ ) en centímetros con una forcípula y la altura total ( $h$ ) en metros con una pistola Haga.

Con estos datos se generaron los parámetros diámetro medio, área basal, número de árboles por unidad de superficie, volumen de madera con corteza a partir de las ecuaciones de cubicación del Inventario Forestal del estado de Tabasco (34), altura media de los árboles y altura dominante ( $h_{dom}$ ), definida como la media de las alturas de los cien árboles más gruesos por hectárea (5, 6) y calculada como la altura media de los  $n$  árboles más gruesos de la parcela siendo

$n = S/100$  y  $S$  la superficie de la parcela de medición en m<sup>2</sup>.

### **Determinación del índice de sitio**

La clasificación de la calidad de sitio para rodales regulares suele emplear un sistema de curvas de altura dominante en función de la edad del rodal para expresar las diferentes capacidades productivas.

En este caso se eligió construir el índice de sitio a través del método de la curva guía, que de acuerdo con Clutter *et al.* (1983), es una línea promedio que señala el comportamiento de las alturas dominantes en función de la edad.

Para determinar la curva guía se realizaron los ajustes de los modelos clásicos de crecimiento de Schumacher, Gompertz, Hossfeld IV, y los modelos Monomolecular y Logístico (15), (tabla 1, pág. 18) para cuantificar la altura dominante de las plantaciones en función de la edad.

### *Análisis estadístico*

Se aplicó análisis de regresión no lineal, para estimar los parámetros de los modelos de crecimiento en altura de los árboles dominantes.

Los análisis se hicieron con el software estadístico SAS/ETS®, versión 9.1.3 (35), mediante el procedimiento NLIN.

Los modelos se construyeron mediante validación cruzada, distribuyendo los datos de manera aleatoria en cinco grupos del 20% cada uno.

Con cada grupo de datos se realizó la validación del modelo generado con el 80% de datos restantes (27).

Se obtuvo la eficiencia de cada modelo (EF, ecuación 6), el error medio del modelo (MRES, ecuación 7) y la diferencia absoluta media (AMRES, ecuación 8): los cuales son considerados buenos estimadores para evaluar los modelos aplicados con regresiones no lineales (21, 32).

**Tabla 1.** Ecuaciones utilizadas para modelar la altura dominante en *Cedrela odorata*.  
**Table 1.** Equations used to model the dominant height in *Cedrela odorata*.

Modelo	Ecuación	Nº de ecuación
Hossfeld IV	$h_{dom} = t^c / (a + b \cdot t^c)$	(1)
Monomolecular	$h_{dom} = a \cdot (1 - \exp(-b \cdot c \cdot t))$	(2)
Gompertz	$h_{dom} = a \cdot \exp(-b \cdot \exp(-c \cdot t))$	(3)
Logístico	$h_{dom} = a / (1 + b \cdot \exp(-c \cdot t))$	(4)
Schumacher	$h_{dom} = a \cdot \exp(-b/t)$	(5)

$h_{dom}$  = altura dominante (m);  $t$  = edad de los árboles (años);  $a$ ,  $b$  y  $c$  = parámetros estimados. Fuente: (15).  
 $h_{dom}$  = dominant height (m);  $t$  = tree age (years);  $a$ ,  $b$  &  $c$  = estimated parameters. Source: (15).

La selección del modelo de los cinco generados de cada tipo fue a partir de la eficiencia predictiva, de los errores medios y la diferencia absoluta, el análisis de residuales y el análisis gráfico del ajuste a los datos observados.

A cada modelo se asignó un número de orden para cada indicador estadístico de validación de acuerdo con el mejor resultado (1 al valor más alto para EF, 1 al valor absoluto más bajo para MRES y AMRES, 2 al siguiente etc.) y sumando estos números de orden.

El modelo mejor fue el que presentó un valor sumatorio más bajo.

$$EF = 1 \frac{\sum_{i=1}^{i=n} (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^{i=n} (y_i - \bar{y}_i)^2} \quad (6)$$

$$MRES = 1 \frac{\sum_{i=1}^{i=n} (y_i - \hat{y}_i)}{n} \quad (7)$$

$$AMRES = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} |y_i - \hat{y}_i|}{n} \quad (8)$$

donde:

- $y_i$  = valor observado
- $\hat{y}_i$  = valor estimado con el modelo
- $\bar{y}_i$  = valor promedio de los valores observados o reales.

A partir de la curva guía, ajustada para el conjunto de todas las mediciones, se generó una familia de curvas anamórficas; estas curvas se caracterizan por presentar la misma forma, son proporcionales entre sí, y guardan una relación constante entre la pendiente de la curva de una calidad y la pendiente de otra calidad a cualquier edad, además de que el punto de inflexión lo presentan a la misma edad (10, 18, 26).

Los índices de sitio se definieron con un intervalo de 4 m entre uno y el siguiente, de tal manera que abarcaran el rango de alturas dominantes medidas a la edad base: este intervalo permitió definir tres clases de índice de sitio, separados por tres o más metros.

Para cada índice de sitio se determinó la curva anamórfica que lo representa ajustando un coeficiente de proporcionalidad (CP), a partir de la relación entre la altura que corresponda a la curva guía en la edad base y cada índice de sitio.

La edad base se seleccionó en función de dos criterios: estar cercana a la mitad del turno de corta; y estar plenamente dentro del rango de edades medidas (1, 2).

### Determinación del crecimiento en volumen de madera

Se determinó el volumen de los árboles a partir de la ecuación 9 de cubicación elaborada para cedro en el Inventario Forestal del Estado de Tabasco (34).

$$v = \exp(-9,19540026) \times d^{1,64562367} \times h^{1,07521209} \quad (9)$$

donde:

$v$  = volumen total de fuste en metros cúbicos

$d$  = diámetro normal en centímetros

exp = función exponencial

$h$  = altura total del árbol en metros.

Se determinó el crecimiento medio anual en volumen de madera de la plantación ( $IMAV$ ) ( $m^3 ha^{-1} año^{-1}$ ), a partir de la ecuación 10; el crecimiento anual en volumen del árbol medio de cada parcela ( $IMAv$ ) ( $m^3 árbol^{-1} año^{-1}$ ), a partir de la ecuación 11.

$$IMAV = \frac{\sum_1^n v}{S \times t} \quad (10)$$

$$IMAv = \frac{\sum_1^n v}{n \times t} \quad (11)$$

donde:

$v$  = volumen total de fuste en metros cúbicos de los  $n$  árboles de la parcela

$S$  = superficie de la parcela en hectáreas,

$n$  = es el número de árboles de la parcela

$t$  = la edad de la plantación en años

Se analizó la relación de los crecimientos anuales en volumen de madera de

la plantación ( $IMAV$ ) y del árbol medio de la parcela ( $IMAv$ ), con la altura dominante de los rodales ( $H_{dom}$ ); utilizando datos de los rodales con edades comprendidas entre 9 y 11 años (cerca a la edad de referencia).

Se comprobó la normalidad de los datos; se ajustaron las relaciones mediante regresión lineal con el procedimiento REG de SAS (35).

Los datos que no tuvieron distribución normal se transformaron mediante logaritmos naturales y se ajustaron relaciones potenciales y exponenciales con regresión no lineal, seleccionando la mejor.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Valores dasométricos de las parcelas

Las plantaciones de *Cedrela odorata* inventariadas presentaron un rango de edades de 3 a 15 años (tabla 2, pág. 22).

Las distancias de plantación en cedro están entre 1,5×1,5 m, las cuales generan densidades iniciales de 4.444  $árb \cdot ha^{-1}$ , hasta 8×8 m con 156 árboles en sistemas agroforestales, principalmente para producir madera aserrada.

Los diámetros promedio varían desde menos de 10 cm hasta 33 cm en las plantaciones de mayor edad.

Las alturas medias son muy diversas en las edades jóvenes, con plantaciones de 3 años que superan los 10 m, mientras que otras de 5 años no alcanzan 6 m de altura, la altura media sobrepasa 21 m en las plantaciones de mayor edad.

Las densidades de plantación tienen un amplio rango, al igual que las reportadas en los países tropicales de América y África donde se cultiva la especie (12), salvo que en Tabasco son frecuentes espaciamientos superiores a 4×4 m, asociados a sistemas agroforestales.

Los diámetros y las alturas están en el rango medio-superior de los reportados por la autora citada.

**Tabla 2.** Variables dasométricas de árbol y de masa, en plantaciones de *C. odorata* en Tabasco, México.  
**Table 2.** Dasometric variables of tree and stand, in plantations of *C. odorata* in Tabasco, Mexico.

Plantación	Municipio	Edad (años)	Dap promedio (cm)	Altura total promedio (m)	Área basal promedio (m <sup>2</sup> ha <sup>-1</sup> )	Volumen promedio (m <sup>3</sup> árbol <sup>-1</sup> )	Densidad arbolado (árbol ha <sup>-1</sup> )	Altura dominante (m)
27-031	Cunduacán	3	12,45	10,15	15	0,070	1,415	11,09
27-032	Balancán	3	10,51	8,57	7	0,039	768	9,54
27-030	Cunduacán	4	11,48	8,06	6	0,042	586	8,21
27-035	Cunduacán	4	10,81	9,02	9	0,055	613	12,00
27-044	Tacotalpa	4	10,08	9,53	5	0,041	684	11,18
27-011	Nacajuca	5	7,78	5,52	3	0,015	522	7,67
27-043	Centro	6	10,02	8,36	9	0,039	1,099	11,00
27-002	Cunduacán	7	19,48	12,68	19	0,201	621	14,00
27-005	Cunduacán	7	9,26	9,87	12	0,062	1,280	17,63
27-038	Cunduacán	8	20,15	12,83	9	0,212	427	12,97
27-018	Cárdenas	8	19,78	12,99	7	0,244	197	14,29
27-003	Cunduacán	9	13,23	11,86	16	0,103	1,049	14,36
27-001	Cunduacán	9	19,47	12,72	12	0,204	387	13,63
27-022	Huimanguillo	10	21,24	15,37	17	0,265	511	17,59
27-015	Teapa	10	29,09	18,15	12	0,630	171	19,06
27-040	Cunduacán	11	21,50	11,28	7	0,346	149	14,68
27-021	Comalcalco	11	15,06	11,06	12	0,110	701	13,58
27-050	Cunduacán	12	13,19	11,40	14	0,092	718	14,58
27-033	Cunduacán	12	21,94	16,18	6	0,358	132	17,04
27-012	Comalcalco	12	19,42	13,87	5	0,223	165	14,93
27-028	Comalcalco	13	17,98	11,31	15	0,161	569	12,38
27-007	Cunduacán	15	33,60	21,59	13	1,081	133	22,06

Nota: El volumen promedio se calculó para cada parcela con el modelo propuesto por SARH (34).

La altura dominante es la altura promedio de los 100 árboles más gruesos por hectárea (6).

Note: Average volume was calculated for each plot with the model proposed by SARH (34).

The dominant height is the mean height of the 100 thickest trees per hectare (6).

No se pudo cuantificar la influencia de las diferencias en el manejo (fertilización y deshierbe de las plantaciones) sobre la calidad de la plantación. Al respecto, Martínez-Zurimendi *et al.* (2015) mencionan que en la calidad de la plantación intervienen factores diferentes de la calidad de sitio, tales como el material genético, la preparación del terreno y el manejo de la plantación.

Si se mejora el manejo silvícola, por ejemplo, con una mejor preparación del terreno y una fertilización más adecuada, puede incrementarse la altura de los árboles y su producción.

### Ajuste de los modelos de altura dominante

El modelo que presentó mejor ajuste por el resultado del ANOVA fue el de Hossfeld IV (tabla 3).

El análisis gráfico de las curvas guía (figura 2, pág. 24) indica que los modelos Hossfeld IV, Monomolecular, Logístico y Gompertz tienen buen ajuste y son prácticamente coincidentes de 2 a 12 años, mientras que el modelo de Schumacher presenta peor ajuste.

Para edades superiores a los doce años en el modelo de Hossfeld IV la altura dominante continúa creciendo de manera constante como se aprecia en las plantaciones de mayor edad, mientras que en los otros tres modelos, la altura dominante presenta un crecimiento que va disminuyendo con la edad, ajustándose a una asíntota, acorde con la observación del crecimiento de la especie.

El modelo fue preciso, indicando la inexistencia de heterocedasticidad y no presentó valores atípicos.

### Validación de los modelos

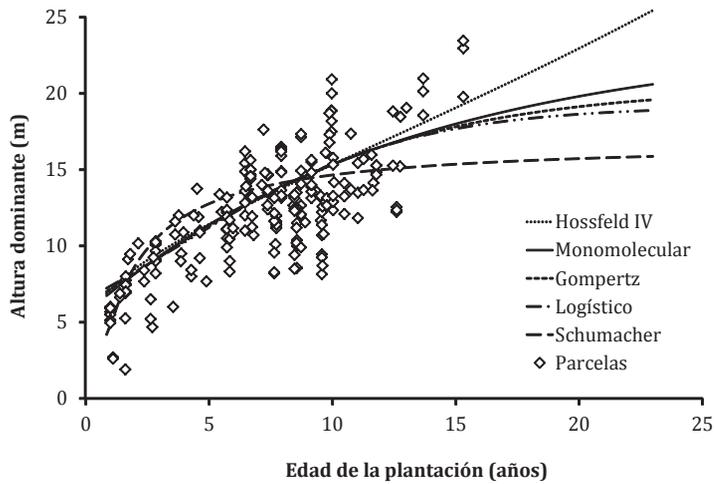
De los cinco modelos, el que mejor eficiencia presentó fue el de Hossfeld IV, seguido del Monomolecular (tabla 4, pág. 24), y con los modelos de Gompertz y Logístico se obtuvieron eficiencias muy próximas a la máxima.

Los valores de AMRES fueron altos y muy similares para todos los modelos observados, lo cual indica que se ha cubierto de manera amplia la gran variabilidad de las condiciones de sitio. Sin embargo, el valor de MRES fue más favorable en el modelo Monomolecular que en Hossfeld IV.

**Tabla 3.** Análisis de varianza y parámetros estimados por regresión no lineal para la altura dominante con los modelos para *C. odorata* ajustados con todos los datos.

**Table 3.** Analysis of variance and parameters estimated by non-linear regression for the dominant height with the models for *C. odorata* fitted with all of the data.

Modelo	GL modelo	GL error	Aprox Pr>F		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>
Hossfeld IV	3	219	<0,0001	Estimador	0,3858	-0,2229	0,1215
				Error estadístico aprox.	0,4067	0,4173	0,1641
Monomolecular	2	219	<0,0001	Estimador	31,5589	-0,1863	0,0435
				Error estadístico aprox.	13,4925	0,0722	0,0298
Gompertz	3	219	<0,0001	Estimador	-3,2021	1,4254	0,1008
				Error estadístico aprox.	0,2120	0,1645	0,0306
Logístico	3	219	<0,0001	Estimador	22,7499	2,6070	0,1544
				Error estadístico aprox.	3,7413	0,4629	0,0317
Schumacher	2	220	<0,0001	Estimador	16,4185	1,5772	
				Error estadístico aprox.	0,3944	0,1355	



**Figura 2.** Curvas guía ajustadas de los cinco modelos ensayados y dispersión de los valores medidos en las parcelas de *C. odorata* en Tabasco.

**Figure 2.** Guide curves of the five models assayed and distribution of the mean values in the plots of *C. odorata* in Tabasco.

**Tabla 4.** Eficiencia, error medio y diferencia absoluta media de los modelos de altura dominante para *Cedrela odorata*.

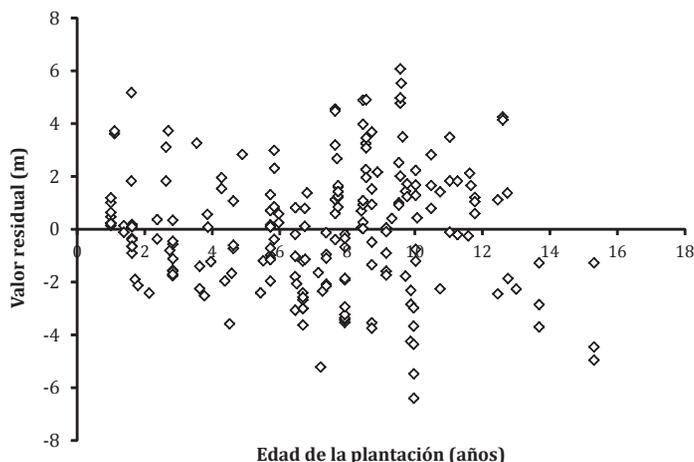
**Table 4.** Efficiency, mean error and mean absolute difference of the models of dominant height for *Cedrela odorata*.

Modelos	Eficiencia (EF)	Número de orden	MRES	Número de orden	AMRES	Número de orden	Suma de números de orden
Hossfeld IV	0,5705	1	-0,0156	4	1,8729	1	6
Monomolecular	0,5590	2	-0,0011	2	1,9099	2	6
Gompertz	0,5521	3	0,0006	1	1,9327	3	7
Logístico	0,5450	4	0,0021	3	1,9537	4	11
Schumacher	0,5035	5	-0,0398	5	1,9678	5	15

Los residuales del modelo Hossfeld IV manifiestan distribución normal (figura 3, pág. 25) frente a la variable independiente y buen ajuste de 3 a 12 años, aunque tienden a sobrevalorar la altura dominante a edades tempranas (0-3 años) y a subvalorarla a edades superiores (13-16 años).

El sesgo detectado en el modelo en edades superiores a 12 años, se debe a que las plantaciones de mayor edad evaluadas pertenecen a calidades de sitio media y alta.

Las plantaciones de edades intermedias estuvieron ampliamente repartidas entre todas las calidades.



**Figura 3.** Valores residuales obtenidos en la validación del modelo Hossfeld IV en plantaciones de *C. odorata* en Tabasco, México.

**Figure 3.** Residual values obtained in the validation of the Hossfeld IV model in plantations of *C. odorata* in Tabasco, Mexico.

La normalidad de los residuos se determinó con la prueba de Kolmogorov - Smirnov.

El ajuste lineal de los residuales del modelo contra la variable predictora presenta rectas casi horizontales próximas al eje de la X (37).

Se eligió el modelo Hossfeld IV por su mayor ajuste algebraico, además de que presenta una predicción del crecimiento acorde con el crecimiento característico de la especie en edades juveniles.

El Modelo Hossfeld IV se ajusta mejor a la evolución de las parcelas (figura 4, pág. 27).

El ámbito de utilidad del modelo es para mediciones realizadas entre 4 y 12 años: las predicciones del índice de sitio a partir de mediciones realizadas los años 1 a 3 dan valores inferiores a los medidos; a partir de 4 años de edad, hasta 12 años, el modelo se ajusta a las mediciones observadas; a partir de 12 años de edad

las previsiones del modelo deben tomarse como un valor estimativo.

García Cuevas *et al.* (2007) también recomiendan no aplicar los modelos a plantaciones muy jóvenes por la posibilidad de introducir un fuerte error.

### Índice de sitio

Se seleccionó el modelo Hossfeld IV, y ajustado con todos los datos se obtuvo la ecuación 12:

$$h_{dom} = t^{0,1215} / (0,3858 - 0,2229 \cdot t^{0,1215}) \quad (12)$$

donde:

$h_{dom}$  = altura dominante en metros

$t$  = edad del rodal en años

El valor del índice de sitio promedio para el conjunto de las plantaciones de *C. odorata* en Tabasco fue 14,59 m de altura dominante a la edad de 10 años.

Las plantaciones presentaron índices de sitio muy variables, desde 8 hasta 22 m. Esta variabilidad tan importante en la altura dominante expresó un amplio rango en la potencialidad productiva de los sitios, por lo que será imprescindible considerar la calidad del sitio de cada plantación en la silvicultura que se aplique.

Con la amplitud existente en el índice de sitio se consideró adecuada la separación de tres calidades con 4 m, de diferencia, definiéndose el valor medio del IS para esas calidades: 11, 15 y 19 m de altura dominante a los 10 años de edad de referencia (ecuaciones 13 a 15).

Los modelos se concretaron en las siguientes expresiones algebraicas:

Calidad de sitio I:

$$h_{dom} = 0,7562 \cdot t^{0,1215} / (0,3858 - 0,2229 \cdot t^{0,1215}) \quad (13)$$

Calidad de sitio II:

$$h_{dom} = 1,0313 \cdot t^{0,1215} / (0,3858 - 0,2229 \cdot t^{0,1215}) \quad (14)$$

Calidad de sitio III:

$$h_{dom} = 1,0363 \cdot t^{0,1215} / (0,3858 - 0,2229 \cdot t^{0,1215}) \quad (15)$$

Las plantaciones quedaron representadas en tres clases de calidad de sitio: 11 m para la calidad baja, 15 m para la calidad media y 19 m para la calidad alta (figura 4, pág. 27).

El 25,1% de las parcelas inventariadas correspondió a la calidad baja (IS < 13 m), el 52,1% a la calidad media (IS > 13m; IS < 17 m) y el 22,8% a la calidad alta (IS > 17 m).

A partir de los resultados anteriores, el modelo general de altura dominante en función del índice de sitio y de la edad para *Cedrela odorata* se puede expresar de la siguiente manera (ecuación 16):

$$h_{dom} = 0,0688 \cdot IS \cdot t^{0,1215} / (0,3858 - 0,2229 \cdot t^{0,1215}) \quad (16)$$

A través del despeje matemático de la ecuación anterior es posible estimar el IS para una plantación con la altura dominante y la edad (ecuación 17).

$$IS = 14,5454 \cdot h_{dom} / (t^{0,1215} / (0,3858 - 0,2229 \cdot t^{0,1215})) \quad (17)$$

El crecimiento inicial en altura es vigoroso y característico de la especie y ha sido descrito en muchos lugares de su área de distribución: Venezuela (4), Nicaragua (3), Panamá (20, 28).

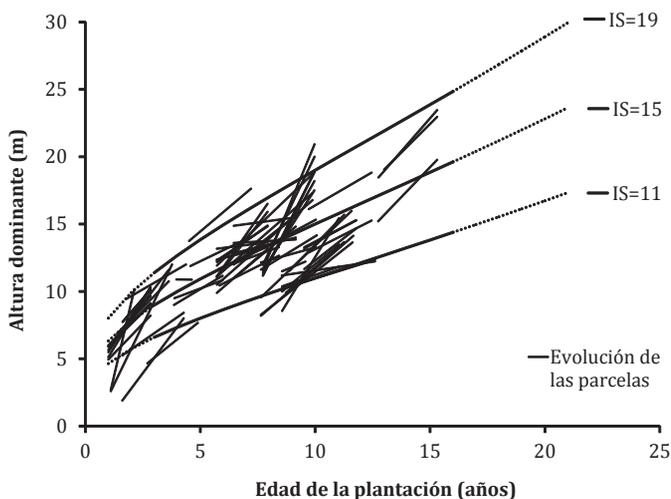
En Tabasco, según la calidad de sitio, se predicen alturas dominantes de 6 a 15 m a los cinco años, mientras que en Veracruz, México, Salazar-García *et al.* (2012) predicen de 2 a 14 m a esa edad, con crecimiento ligeramente inferior.

Los índices de sitio reportados por Galán-Larrea *et al.* (2008) para Oaxaca, en plantaciones de enriquecimiento de vegetación secundaria, son notoriamente más altos, de 14 a 26 m a la misma edad base, aunque las mediciones estaban comprendidas entre 14 y 18 m, que corresponden a las calidades media y superior de Tabasco.

Las calidades baja y alta presentan altura dominante de 14,5 y 25,5 m a los 20 años, respectivamente; superiores a las que reportan García-Cuevas *et al.* (2007) para Quintana Roo, México: de 10 a 18 m a los 20 años.

Los modelos se han realizado con muestras de plantaciones con edades hasta los 15 años. Sin embargo en la modelización que se propone, la asignación de alturas dominantes a edades superiores a los 12 años debe usarse como estimativa y solo con nuevas mediciones a mayores edades se podrá determinar si el modelo sigue siendo útil y se ajusta al comportamiento de la especie.

Hubiera sido conveniente contar con plantaciones de edad superior a 15 años para tener más ampliamente representado el turno de la especie. Esta herramienta deberá ser mejorada en el futuro, ampliando el rango de los datos, lo que permitirá mejorar el ajuste de las curvas y ampliar el rango de edades de su aplicación.



**Figura 4.** Curvas anamórficas de altura dominante con el modelo de Hossfeld IV para tres clases de índice de sitio, con relación a las edades de las plantaciones de *C. odorata* en Tabasco, México.

**Figure 4.** Anamorphic curves of dominant height with HossfeldIV model for three classes of site index, related to the ages of plantations of *C. odorata* in Tabasco, Mexico.

#### Crecimiento en volumen de madera

La altura dominante de las parcelas ( $h_{dom}$ ) y el incremento medio anual en volumen de las plantaciones (*IMAV*) presentaron una distribución normal. *IMAV* se relaciona de manera lineal (ecuación 18) con la altura dominante ( $R^2 = 0,70$ ).

$$IMAV = -9,4497 + 1,4229 \cdot h_{dom} \quad (18)$$

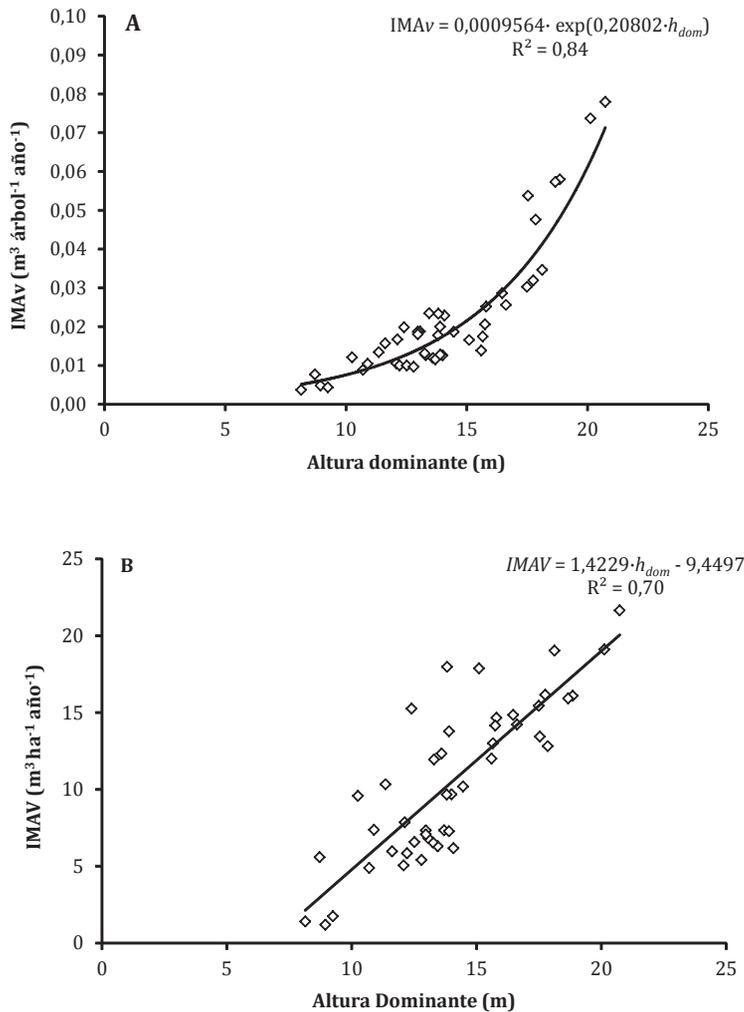
El incremento medio anual en volumen del árbol medio (*IMAv*) no presentó una distribución normal de los datos, estos se transformaron mediante logaritmo natural y se ajustaron las relaciones potencial ( $R^2 = 0,82$ ) y exponencial ( $R^2 = 0,84$ ), que resultó la mejor (ecuación 19).

$$IMAv = 0,0009564 \cdot \exp(0,20802 \cdot h_{dom}) \quad (19)$$

La altura dominante máxima determinada en las plantaciones fue 20,73 m a los 10 años de edad (figura 5, pág. 28); en la misma calidad se obtuvo un crecimiento medio de 21,65  $m^3 \text{ ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ ; la altura dominante mínima reportada a los diez años fue 8,14 m, el crecimiento medio en esa plantación fue de 1,40  $m^3 \text{ ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ . Se dio una relación funcional entre la altura dominante de las plantaciones y la producción de madera.

Los crecimientos medidos tienen un rango más amplio del usualmente reportado para la especie.

Galán-Larrea *et al.* (2008) reportan *IMAV* de 2,1 a 4,6  $m^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{año}^{-1}$  en plantaciones de enriquecimiento de acahuals con *C. odorata* en Oaxaca, en densidades bajas de arbolado, e  $IS_{10}$  de 14 a 26 m.



**Figura 5.** A: Incremento medio anual en volumen de madera del árbol (*IMAv*). B: Incremento medio anual en volumen de madera por hectárea (*IMAV*), en función de la altura dominante ( $h_{dom}$ ) en las plantaciones de *C. odorata*, en plantaciones de 9 a 11 años de edad (la edad de referencia  $\pm 1$  año).

**Figure 5.** A: Annual mean increase in volume of tree wood (*IMAv*, by its Spanish abbreviation). B: Annual mean increase in volume of stand (*IMAV*, by its Spanish abbreviation) as a function of dominant height ( $h_{dom}$ ) in the plantations of *C. odorata*, in plantations of 9 to 11 years of age (age of reference  $\pm 1$  year).

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos se pudieron desarrollar modelos que permiten determinar la calidad del sitio a partir de la altura dominante y la edad de la plantación. De los modelos de Hossfeld IV, Monomolecular, Gompertz, Logístico y Schumacher, el primero es el que mejor se ajusta a la evolución de la altura dominante con base en la edad en las plantaciones de *Cedrela odorata* en Tabasco.

Se definen tres clases de calidad de sitio para expresar la potencialidad productiva de la región estudiada: baja (11 m de altura dominante a los 10 años de edad), media (15 m) y alta (19 m). Este modelo puede aplicarse eficazmente en plantaciones de *Cedrela odorata* del

estado de Tabasco en el rango de edades de 4 a 12 años.

También se pudo determinar el crecimiento medio anual en volumen de madera de los rodales a la edad de 10 años, mediante una ecuación predictiva en función de la altura dominante.

La variación de calidades de sitio entre las plantaciones (8 a 22 m de altura dominante a los 10 años de edad) corresponde a un amplio rango de producciones maderables de 1,40 a 21,65 m<sup>3</sup>·ha<sup>-1</sup>·año<sup>-1</sup> a esa misma edad. La determinación de los índices de sitio servirá para seleccionar las mejores condiciones para el establecimiento y desarrollo de plantaciones de *Cedrela odorata*.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Alder, D. 1980. Estimación del volumen forestal y predicción del rendimiento con referencia especial a los trópicos: Vol. 2 - Predicción del rendimiento. Roma. Estudio FAO. Montes 22/2. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 118 p.
2. Álvarez-González, J. G.; Barrio-Anta, M.; Diéguez-Aranda, U.; Rojo-Alboreca, A. 2004. Metodología para la construcción de curvas de calidad de estación. Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales. 18: 303-309.
3. Andrés, P.; Salgado, C.; Espelta, J. M. 2011. Optimizing nursery and plantation methods to grow *Cedrela odorata* seedlings in tropical dry agroecosystems. *Agroforestry Systems*. 83 (2): 225-234.
4. Araque, O.; Jaimez, R. E.; Azócar, C.; Espinoza, W.; Tezara W. 2009. Relations between foliar anatomy, gas exchange and growth in juveniles of four forest species. *Interciencia*. 10(34): 725-729.
5. Assmann, E. 1970. The principles of forest yield study. New York, USA. Oxford Pergamon Press. 506 p.
6. Bengoa, J. L. 1999 Estimación de la altura dominante de la masa a partir de la "altura dominante de parcela". Ventajas frente a la altura dominante de Assman. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales Fuera de Serie*. 1: 311-321.
7. Bravo-Medel, A. 2007. Estimación maderable y evaluación financiera de plantaciones forestales comerciales de cedro y caoba en Oaxaca, México. Tesis de Maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Texcoco, Edo. de México, México. 86 p.
8. Bravo-Oviedo, A.; Del Río, M.; Montero, G. 2004. Site index curves and growth model for Mediterranean maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) in Spain. *Forest Ecology and Management*. 201: 187-197.
9. Cajander, A. K. 1926. The theory of forest types. *Acta Forestalia Fennica*. 29: 1-108.
10. Carrero, O.; Mauricio, J.; Macchiavelli, R.; Orlandoni, G.; Stock, J. 2008. Ajuste de curvas de índice de sitio mediante modelos mixtos para plantaciones de *Eucalyptus urophylla* en Venezuela. *Interciencia*. 33(4): 265-272.
11. Chagoya, J.; Vallejo, A. 2003. Curvas de crecimiento de *Cedrela odorata* en sistema de manejo forestal. SILVIA Ver. 2.5.0. CATIE, Costa Rica. Disponible en: <http://www.catie.ac.cr/silvia.html>. (Accessed October 2011).

12. Cintron, B. B. 2000. *Cedrela odorata* L. Cedro hembra, Spanish cedar. In: Francis, J. K.; Lowe, C. A. (Eds.), S. Trabanino (trad.) *Bioecología de Árboles Nativos y Exóticos de Puerto Rico y las Indias Occidentales*. Río Piedras, Puerto Rico. Gen. Tech. Rep. IITF-15. U.S. D.A. Forest Service. 250-257.
13. Clutter, J. L.; Fortson, J. C.; Pienar, L. V.; Brister, G. H.; Bailey, R. L. 1983. *Timber management: A quantitative approach*. New York, U.S.A. John Wiley and Sons, Inc. 333 p.
14. Cordero, J.; Boshier, D. (eds.) 2003. *Árboles de Centroamérica: Un manual para extensionistas*. Turrialba, CR, OFI/CATIE. 1079 p.
15. Corral-Rivas, S.; Návar-Cháidez, J. de J. 2005. Análisis del crecimiento e incremento de cinco pináceas de los bosques de Durango, México. *Madera y Bosques* 11 (1): 29-47.
16. Dupuy, B.; Mille, G. 1993. *Timber plantations in the humid tropics of Africa*. Roma, Italia. FA.O. 190 p.
17. Galán-Larrea, R.; de los Santos-Posadas, H. M.; Valdez-Hernández, J. I. 2008. Crecimiento y rendimiento de *Cedrela odorata* L. y *Tabebuia donnell-smithii* Rose en San José Chacalapa, Pochutla, Oaxaca. *Madera y Bosques*. 14(2): 65-82.
18. García, O. 2006. Site index: concepts and methods. In Cieszewski, C. J.; Strub, M. (Eds.) *Second International Conference on Forest Measurements and Quantitative Methods and Management and the 2004 Southern Mensurationists Meeting*. Hot Springs, Arkansas, USA: Warnell School of Forestry and Natural Resources, University of Georgia. 275-283.
19. García-Cuevas, X.; Flores, J. G.; Benavides J.D. 2007. Índice de sitio para cedro (*Cedrela odorata* L.) en Quintana Roo, México. *Ciencia Forestal en México*. 32(101): 71-92.
20. Hall, J. S.; Love, B. E.; Garen, E. J.; Slusser, J. L.; Saltonstall, K.; Mathias, S.; Ashton, M. S. 2011. Tree plantations on farms: Evaluating growth and potential for success. *Forest Ecology and Management*. 261(10): 1675-1683.
21. Huang, S.; Yang, Y.; Wang, Y. 2003. A critical look at procedures for validating growth and yield models. In: Amaro, A.; Redd, A.; Soares, P. (Eds.) *Modelling Forest Systems*. Wallingford, UK: CAB International. 271-293.
22. INEGI 2012. *Anuario Estadístico de Tabasco*. México. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 426p.
23. Martínez-Zurimendi, P.; Domínguez-Domínguez, M.; Juárez-García, A.; López-López, L.M.; De la Cruz-Arias, V. y Álvarez-Martínez, J. 2015. Índice de sitio y producción de madera en plantaciones forestales comerciales de *Gmelina arborea* en Tabasco, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 38(4): 415-425.
24. Ortega, A. y Montero, G. 1988. Evaluación de la calidad de las estaciones forestales. *Revisión bibliográfica*. *Ecología*. 2: 155-184.
25. Pennington, T.; Styles, B.; Taylor, D. 1981. *Meliaceae. Flora Neotrópica*. New York, USA. Monografía 28: New York Botanical Garden. 440 p.
26. Pérez-González, G.; Domínguez-Domínguez, M.; Martínez-Zurimendi, P.; Etchevers-Barra J. D. 2012. Caracterización dasométrica e índice de sitio en plantaciones de caoba en Tabasco, México. *Madera y Bosques*. 18(1): 7-24.
27. Picard, N.; Saint-André, L.; Henry, M. 2012. *Manual de construcción de ecuaciones alométricas para estimar el volumen y la biomasa de los árboles: del trabajo de campo a la predicción*. Roma. Las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y El Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement. 223 p.
28. Plath, M.; Mody, K.; Potvin, C.; Dorn, S. 2011. Establishment of native tropical timber trees in monoculture and mixed-species plantations: Small-scale effects on tree performance and insect herbivory. *Forest Ecology and Management*. 261(3): 741-750.
29. Prodan, M.; Peters, R.; Cox, F.; Real, P. 1997. *Mensura forestal*. San José, C.R. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH – Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (DCA). 586 p.
30. Quintero-Castañeda, H. 2005. Crecimiento de dos especies tropicales maderables en plantaciones en San José Chacalapa, Pochutla Oaxaca. Tesis de Ingeniería Forestal. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, México. 81 p.
31. Raebild, A.; Meilby, H. 2006. Cálculo de tablas volumétricas y tablas de crecimiento. Informe técnico Proyecto FOMABO N2. Cochabamba, Bolivia. Escuela de Ciencias Forestales-ESFOR. 17 p.

32. Rodríguez-Toro, A.; Rubilar-Pons, R.; Muñoz-Sáez, F.; Cártes-Rodríguez, E.; Acuña-Carmona, E.; Cancino-Cancino, J. 2016. Modelo de ahusamiento para *Eucalyptus nitens*, en suelos de cenizas volcánicas de la región de La Araucanía (Chile). Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 48(1): 101-114.
33. Salazar-García, J. G.; Santiago-Trinidad, O.; Sánchez-Monsalvo, V.; Monroy Rivera, C.; Couttolenc-Brenis, E. 2012. Modelo para determinar calidad de sitio a edades tempranas de cuatro especies tropicales. Revista Mexicana de Ciencias Forestales. 3(11): 71-80.
34. SARH (Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos). 1984. Inventario Forestal del estado de Tabasco. Pub. Esp. 54. México, D.F. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 87 p.
35. SAS (Statistical Analysis Software). 2003. User's Guide, version 9.1.3. Cary, North Carolina. USA. SAS Institute Inc. s/p.
36. Ugalde-Arias, L. 2001. Guía para el establecimiento y medición de parcelas para el monitoreo y evaluación del crecimiento de árboles en investigación y en programas de reforestación con la metodología del sistema MIRASILV. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 14 p.
37. Vanclay, J. K. 1994. Modelling forest growth and yield: applications to mixed tropical forests. Wallingford, UK. CAB International. 312 p.
38. Vega-Condori, L. 1974. Influencia de la silvicultura sobre el comportamiento de *Cedrela* en Surinam. Boletín Instituto Forestal Latinoamericano. 46-48: 57-86.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Esta investigación fue realizada con financiamiento de la Fundación Produce, Tabasco. La Comisión Estatal Forestal (COMESFOR) de Tabasco, México, apoyó en las labores de inventario y aportó su base de datos.

# Comparación de las respuestas al estrés hídrico y salino de los portainjertos de vid 1103P y 101-14Mgt, injertados con Cabernet Sauvignon

## Comparing water deficit and saline stress between 1103P and 101-14Mgt rootstocks, grafted with Cabernet Sauvignon

Claudia Cecilia Lucero <sup>1</sup>, Marina Di Filippo <sup>1</sup>, Hernán Vila <sup>1</sup>, Matías Venier <sup>2</sup>

Originales: Recepción: 20/10/2016 - Aceptación: 20/02/2017

Nota científica

### RESUMEN

En zonas áridas bajo riego, los viñedos enfrentan condiciones de déficit hídrico y salinidad. Como frecuentemente estos factores de estrés ocurren simultáneamente, es difícil evaluar la gravedad relativa de cada uno de ellos. El objetivo del trabajo fue comparar en forma independiente las respuestas fisiológicas y vegetativas al estrés hídrico y salino de dos portainjertos de vid injertados con Cabernet Sauvignon. Se realizó un experimento en macetas con vides injertadas con Cabernet Sauvignon sobre 1103P y 101-14Mgt. Se aplicaron tres tratamientos: estrés salino (Salino), estrés hídrico (EH) y testigo sin estrés (T). El  $\Psi$  foliar a mediodía fue -1,3 MPa en Salino y EH, y -0,9 MPa en T. Luego de 54 días, Salino afectó menos el área foliar (AF) y la longitud de brotes (LB) que EH. El AF disminuyó 53% en Salino, mientras que en EH se redujo 78% respecto de T. La LB disminuyó 68% en Salino y 83% en EH. La biomasa total no presentó diferencias entre los dos tipos de estrés, disminuyendo ambos un 52% respecto de T, pero la partición de asimilados a los distintos órganos fue distinta. Salino acumuló más biomasa en parte aérea y EH en raíz. Aunque la conductancia estomática se redujo de manera similar en ambos tratamientos de estrés (-41% respecto del T) se encontró una interacción entre tipo de estrés y portainjerto para la fotosíntesis neta. Las plantas injertadas sobre 1103P acumularon un 21% menos de  $\text{Na}^+$  que las injertadas sobre 101-14Mgt. A pesar que el comportamiento de las plantas Cabernet Sauvignon injertadas fue similar para ambos portainjertos, la mayor exclusión de 1103P lo hace más propicio ante situaciones de salinidad.

### Palabras clave

*Vitis vinifera* L. • tolerancia a sales • déficit hídrico • 1103P, 101-14Mgt

---

1 INTA EEA Mendoza, San Martín 3853, Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina.  
lucero.claudia@inta.gob.ar

2 Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Cátedra  
Química Agrícola. Alte. Brown 500. Chacras de Coria. Mendoza. Argentina.  
M5528AHB.

## ABSTRACT

In arid regions under irrigation, vineyards often face water deficit and salinity. As these stressors often occur simultaneously, it is difficult to assess their individual relative severity. The aim of this work was to independently study the physiological responses of grapevine to salinity and water deficit, in order to understand and compare their effects. A pot trial was designed, grafting Cabernet Sauvignon onto 1103P and 101-14 Mgt. Three treatments were evaluated: saline irrigation (Salino; 80 mM ClNa and field capacity), water stress (EH; 0,4 fraction of soil transpirable water and 2 mM NaCl) and a control (T; without any stress factors, field capacity and 2mM NaCl). After 54 days, Salino showed smaller effect on leaf area (AF) and shoot length than EH. AF diminished 53% for Salino, while for EH, AF was reduced in a 78% with respect to T. Shoot length diminished 68% for Salino and 83% for EH. Total biomass did not show any difference between both stresses, falling 52% for both situations. However, regarding the biomass partitioning, Salino had higher canopy dry weight while EH showed higher root dry weight. Midday leaf water potential was -1,3 MPa for Salino and EH and -0,9 MPa for T. Although stomatal conductance was similarly reduced for both stress treatments (-41% compared to T), with no differences between rootstocks; an interaction was found between the type of stress and rootstock for net photosynthesis. Finally, 1103P showed a higher Na<sup>+</sup> exclusion power than 101-14Mgt (accumulating 21% less Na<sup>+</sup> in the plant). Even though the behavior of the Cabernet sauvignon scion was similar for both rootstocks, the higher exclusion that 1103P showed may indicate possible better performances upon salinity.

### Keywords

*Vitis vinifera* L. • salinity tolerance • water deficit • 1103P, 101-14Mgt

## INTRODUCCIÓN

La salinidad es uno de los factores estresantes que más daño causa a los cultivos. Se estima que el 20% del área irrigada mundial sufre este problema (9).

La región oeste de Argentina representa un caso típico, donde los cultivos sufren frecuentemente déficit hídrico y salinidad debido a la aridez del clima y la baja disponibilidad hídrica.

La concentración de sales en la rizósfera produce daños en las plantas en función del tiempo de exposición, del tipo de iones y del genotipo (23).

El aumento de sales en el suelo, disminuye el potencial agua edáfico (por

una disminución del potencial osmótico), lo que dificulta la absorción de agua por parte de las raíces, provocando estrés hídrico. Cuando la exposición a sales continúa, la planta también experimenta un estrés tóxico (o iónico) debido a la alta concentración de iones como Na<sup>+</sup> o Cl<sup>-</sup> en sus tejidos.

La salinidad también produce una disminución del potencial hídrico foliar ( $\Psi_L$ ), de la conductancia estomática ( $g_s$ ) y de la fotosíntesis neta (A) (4, 13, 33), como también alteraciones en la síntesis de proteínas y en la actividad enzimática (23).

Por otra parte, el estrés hídrico también provoca una caída del  $\Psi_p$ , el cual combinado con señales químicas (*e.g.*, síntesis de ABA) y físicas (*e.g.*, disminución de la conductividad del xilema) provocan el cierre estomático, limitando la fotosíntesis (4, 5, 13).

La vid, cultivo perenne de gran importancia en la región oeste de Argentina, es considerada como moderadamente sensible a salinidad; ya que su producción de frutos comienza a disminuir con conductividades eléctricas superiores a  $1,5 \text{ dS m}^{-1}$  en la pasta de saturación del suelo (20).

En cuanto a su respuesta al estrés hídrico, es considerada como una planta tolerante a la sequía que se adapta bien al clima semiárido (5).

Existen trabajos en vid que muestran que el estrés hídrico afecta más el crecimiento que el salino, aunque ambos presentan semejanzas en la expresión génica y síntesis de metabolitos (6, 32). Sin embargo, estos autores no estudiaron otras respuestas fisiológicas (*e.g.* fotosíntesis, transpiración, partición de asimilados a los distintos órganos) a niveles equiparables de potencial agua en la planta. Estas respuestas podrían dilucidar semejanzas y diferencias importantes entre estos factores de estrés.

Por otro lado, en estos trabajos tampoco fueron evaluados distintos portainjertos que podrían mostrar un comportamiento diferencial.

En la viticultura mundial se encuentra difundido el uso de portainjertos debido a su tolerancia a factores bióticos, como es el ataque de filoxera y nemátodos; como también a ambientes adversos.

Los portainjertos más vendidos actualmente en la provincia de Mendoza en variedades de vinificar son 1103P y 101-14Mgt (comunicación personal, fuente Vivero comercial, 2014).

El portainjerto 1103P fue obtenido a partir del cruzamiento de *V. berlandieri* x *V. rupestris*, ha sido calificado en varios trabajos por transferir al injerto un vigor medio a alto (14, 17).

Por otro lado, el portainjerto 101-14Mgt, creado por Millerdet y De Grasset mediante el cruzamiento de *V. riparia* y *V. rupestris*, es considerado como inductor de un vigor moderado al injerto (17).

La posible disminución en la provisión de agua a los cultivos debido al cambio climático y la disminución en cantidad y calidad en algunos recursos hídricos generan la necesidad de buscar portainjertos más tolerantes a sequía y salinidad.

Existen diversas evaluaciones de los portainjertos frente a déficit hídrico, algunas basadas en la respuesta del crecimiento (2, 18, 21, 37), otras en función de variables fisiológicas como el intercambio gaseoso (3, 16, 25, 28), estado hídrico de la planta (8, 16, 25, 37).

El portainjerto 1103P, se ha comportado como tolerante a condiciones de déficit hídrico en varios trabajos (2, 3, 8, 18), pero no en otros (21). También existen antecedentes donde se presentan a los portainjertos con distintos grados de tolerancia a la sal.

Se sabe que los mecanismos relacionados en forma directa con el funcionamiento de la raíz como la capacidad de exclusión, compartimentalización de iones tóxicos en la vacuola y vigor conferido tienen un rol clave en su comportamiento frente a estrés salino (35).

Hay evidencias que muestran que algunos portainjertos tienen la habilidad de restringir la entrada de Cl<sup>-</sup> y el consecuente transporte a los sarmientos por el xilema (7, 12, 15, 22, 29, 34, 35, 36).

Di Filippo *et al.* (2012), observaron que vides de cv. Malbec a pie franco e injertadas sobre 1103P presentaron

mayor tolerancia a sales que las injertadas sobre cv. Cereza y 101-14Mgt, analizando variables como poder de exclusión, superficie foliar y biomasa. Este mejor comportamiento de plantas injertadas sobre 1103P con respecto a 101-14Mgt coincide con lo expuesto por Keller (2010), el cual identifica 1103P dentro del grupo de alta tolerancia a sales y a 101-14Mgt como de tolerancia media.

Si bien en la bibliografía se han identificado algunos portainjertos como más tolerantes a sales o a déficit hídrico, la experiencia local es escasa y resulta importante evaluar combinaciones injerto-portainjerto de interés para Argentina.

### Objetivo

Comparar en forma independiente las respuestas fisiológicas y vegetativas al estrés hídrico y salino de dos portainjertos de vid injertados con Cabernet Sauvignon. Lo que se pretende poner a prueba en este trabajo, es que el estrés hídrico y salino aplicados con igual intensidad afectan diferente las variables fisiológicas de plantas vid, como también la partición de asimilados a los distintos órganos. Además los portainjertos propuestos se comportan diferente respecto de la exclusión de solutos.

### MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó durante el ciclo vegetativo 2012-13 en un invernáculo ubicado en la Estación Agropecuaria del INTA Mendoza, Luján de Cuyo (33°S, 68°O; 924 m s. n. m.) con una temperatura media diaria de 26,6°C, 40% de humedad relativa media y con un flujo de fotones fotosintéticamente activos máximo de 1300  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

Se realizó un experimento en macetas con vides Cabernet Sauvignon injertadas sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt). Los tratamientos de estrés fueron: riego salino (Salino; se regó con una solución de 80 mM NaCl con CE 8,5  $\text{dS m}^{-1}$ , manteniendo el suelo a capacidad de campo), estrés hídrico (EH; se mantuvo el suelo con 0,4 de fracción de agua edáfica transpirable, regando con agua del río Mendoza con 2 mM NaCl y CE 1,5  $\text{dS m}^{-1}$ ) y un testigo (T) sin factores de estrés (suelo a capacidad de campo, con agua del río Mendoza con 2 mM NaCl y CE 1,5  $\text{dS m}^{-1}$ ). Las vides se plantaron en macetas cilíndricas de 20 cm de diámetro por 60 cm de largo, con arena fina como sustrato.

En el tratamiento Salino se decidió utilizar una concentración de 80 mM de NaCl, debido a que es una salinidad alta (8,5  $\text{dS m}^{-1}$ ) pero no tan elevada como para provocar la pérdida rápida del material biológico por desfoliación, necrosis o muerte de plantas. Para el tratamiento de EH se definió el nivel de estrés hídrico necesario para igualar el potencial hídrico de las plantas con estrés salino (80 mM NaCl) en un ensayo previo (datos no presentados).

Las plantas utilizadas se obtuvieron por injerto omega, un año antes. En los tratamientos T y Salino el riego fue aplicado mediante un sistema de riego que recirculaba el agua de drenaje de las macetas en un circuito cerrado, evitando cualquier nivel de estrés hídrico.

La duración del ensayo fue de 54 días (06/12/12 al 29/01/13) con el objeto de evitar pérdida de material vegetal.

Para aclimatar las plantas en Salino, se realizó una salinización gradual, aumentando cada semana 25 mM NaCl en el agua de riego. A los 7 días se aumentó a 50 mM y a los 15 días se llegó a una concentración de 80 mM NaCl.

Por otro lado, en 4 días sin riego se logró que el tratamiento EH llegara a 0,4 de fracción de agua edáfica transpirable. En las macetas de los tratamientos de EH y T se midió la humedad del suelo ( $\theta$ ) mediante un sensor ECH20 EC-5 (Decagon Devices), el cual utiliza la constante dieléctrica del suelo. En las macetas de EH se repuso diariamente el agua transpirada para mantener el umbral definido.

Durante el ensayo se evaluó semanalmente el potencial hídrico foliar de mediodía ( $\Psi_L$ ) con cámara de presión (4P, Biocontrol, Buenos Aires, Argentina), desde 12.00 a 12.40 h.

Al finalizar el ensayo se evaluaron otras variables como fotosíntesis neta (A), conductancia estomática ( $g_s$ ), área foliar (AF), longitud de brotes (LB), profundidad máxima de raíces, biomasa de la planta entera como peso seco ( $C_{\text{planta}}$ ), biomasa aérea y radical, potencial osmótico en hoja ( $\Psi_{\pi H}$ ), contenido total de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en la planta.

La A y  $g_s$  de las plantas se midieron en una hoja desarrollada y expuesta a la luz ubicada en la parte media del brote, durante un día soleado desde las 10.00 a 11.00 h. Esta medición se realizó mediante un analizador de gases por infra-rojo de circuito abierto (CIRAS-2, PP Systems, Hertfordshire, R.U.), con una cubeta universal de hoja, con un área de 2,5  $\text{cm}^2$  (PLC6 (U), CRS121, PPSsystems, Hertfordshire, R.U.). El AF de las plantas se estimó a través de la relación obtenida entre el peso fresco de las hojas (P; g) y el área foliar escaneada de las mismas ( $\text{cm}^2$ ). Esta regresión fue:

$$\text{AF (cm}^2\text{)} = 41,563 * \text{P} + 83,212; \text{ }^2: 0,92; \text{ p} < 0,0001.$$

La LB se obtuvo mediante la sumatoria de la longitud del brote principal y las femineas. El peso seco de hojas, tallo y

raíz se determinó luego de deshidratar estas partes de la planta en una estufa con aire forzado a 65°C hasta peso constante.

El  $\Psi_{\pi H}$  se midió en hojas desarrolladas durante la aplicación de los tratamientos de estrés, las cuales se congelaron con nitrógeno líquido para destruir sus células y extraer por presión el extracto necesario para su medición en un osmómetro Vapro (Wescor, USA).

Los contenidos de los iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  se midieron en extractos de los tejidos deshidratados en estufa. Para determinar el  $\text{Na}^+$  se realizó extractos clorhídricos con una relación de extracción de 1:50 y se midió por fotometría de llama (11, 26). Los contenidos de  $\text{Cl}^-$  se evaluaron por volumetría en un extracto acuoso (1:100), según el método de Mohr (11, 26) utilizando una solución de nitrato de plata de concentración conocida y cromato de potasio como indicador. A partir de estos valores con el peso seco de las plantas se calcularon los contenidos totales.

El diseño del experimento fue factorial completamente al azar donde se evaluaron dos tratamientos para el factor portainjerto, y tres para los tipos de estrés, con cuatro repeticiones, dando un total de 24 plantas.

Se analizó la interacción entre los portainjertos y los tratamientos de déficit hídrico y salinidad para las distintas variables medidas mediante el análisis de la varianza (ANOVA), previa verificación de los supuestos (normalidad y homocedasticidad). En los casos que no hubo interacción, se compararon los tratamientos con la prueba de Tukey, con una confianza del 95%.

En los casos en que no se cumplieron los supuestos del ANOVA, homocedasticidad (por Prueba de Levene) y normalidad (por Shapiro-Wilks), se transformaron los datos (si aún así no se cumplieron los supuestos se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis).

Los análisis se realizaron con el programa InfoStat versión 2012 (FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de 15 días de aplicados los tratamientos, una vez que los tratamientos de estrés alcanzaron los niveles de restricción establecidos, se observaron diferencias en el  $\Psi_L$  con respecto al T.

En la etapa final del ensayo (16/01/13) el valor promedio del  $\Psi_L$  en los tratamientos de estrés fue de -1,3 MPa mientras que en T fue de -0,9 MPa, sin diferencias entre portainjertos (tabla 1, pág. 39). Salino y EH redujeron la  $g_s$  de las plantas de manera similar (-41% respecto del T).

La fotosíntesis neta mostró una interacción entre los tipos de estrés y el portainjerto (figura 1, pág. 40). Ambos tipos de estrés afectaron la A de las plantas, pero en EH solo fueron afectadas las plantas injertadas sobre 1103P (aunque los valores de A fueron similares en ambos portainjertos). En Salino, los valores de A también fueron similares para ambos portainjertos pero la afectación fue mayor en 1103P (con respecto a su T).

Otros autores también observaron que la  $g_s$  y la fotosíntesis disminuían con estrés salino o hídrico (4, 5, 13, 33).

En este trabajo los portainjertos no influyeron en la  $g_s$ , coincidiendo con algunos autores (18), pero no con otros (12, 16); lo cual puede deberse a otras condiciones experimentales o a diferentes portainjertos analizados.

El potencial osmótico de las hojas ( $\Psi_{\pi H}$ ) no presentó diferencias entre portainjertos pero sí entre tratamientos (tabla 1, pág. 39).

El tratamiento Salino disminuyó el  $\Psi_{\pi H}$  un 27% con respecto a las plantas sin

estrés, mientras que el DH se comportó de manera intermedia. Al igual que lo evidenciado en este trabajo, otros autores observaron que tanto el estrés hídrico como el salino inducían ajuste osmótico en vid (22).

El mayor ajuste osmótico observado en Salino confirma la hipótesis que los estrés hídrico y salino aplicados con igual intensidad afectan diferente a variables fisiológicas de las plantas. Este mayor ajuste podría deberse a una mayor acumulación de iones tóxicos en las vacuolas de las células. La contribución de los iones al ajuste osmótico fue observado por otros autores en plantas halófitas (27).

Al finalizar el ensayo la longitud de brotes (LB), área foliar total (AF), y biomasa aérea y radical, presentaron diferencias entre los tratamientos pero no entre portainjertos (tabla 1, pág. 39).

El tratamiento salino afectó menos el AF y la LB respecto del EH. El AF disminuyó un 53% en Salino, mientras que en EH se redujo un 78% con respecto a T. LB disminuyó un 68% en Salino y un 83% en EH.

La biomasa total ( $C_{\text{planta}}$ ) no presentó diferencias entre los dos tipos de estrés, disminuyendo ambos un 52% respecto del T. No obstante, la partición de asimilados a los distintos órganos fue distinta. Mientras que la biomasa aérea fue menor en EH, la biomasa de la raíz fue menor en Salino (figura 2, pág. 40). Debido a esto, la relación  $C_{\text{raíz}}/C_{\text{aéreo}}$  de plantas sometidas a EH fue mayor que las del T.

En cambio, Salino si bien disminuyó su  $C_{\text{planta}}$  no cambió su partición respecto de T. A diferencia de lo observado en esta investigación, otros autores vieron que la salinidad alteraba la partición de asimilados a los distintos órganos, debido a una disminución más que proporcional de la parte aérea (12, 31).

**Tabla 1.** Potencial hídrico foliar de mediodía ( $\Psi_L$ ), fotosíntesis neta (A), potencial osmótico de la hoja ( $\Psi_{\pi H}$ ), conductancia estomática ( $g_s$ ), longitud de brote (LB), área foliar (AF), biomasa de planta ( $C_{planta}$ ), relación  $C_{raiz}/C_{aérea}$ , contenido de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt), luego de 54 días con estrés hídrico (EH), salino (Salino) y sin estrés (T).

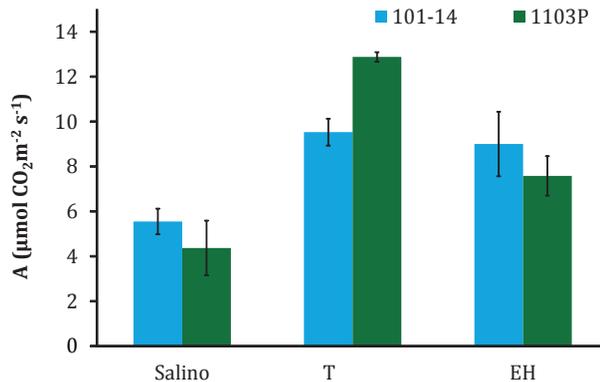
**Table 1.** Midday leaf water potential ( $\Psi_L$ ), net photosynthesis (A), leaf osmotic potential ( $\Psi_{\pi H}$ ), stomatal conductance ( $g_s$ ), shoot length (LB), leaf area (AF), plant biomass ( $C_{planta}$ ), root vs. canopy biomass partitioning ( $C_{raiz}/C_{aérea}$ ), and contents of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> in Cabernet Sauvignon on two rootstocks (1103P and 101-14Mgt), after 54 days under water stress (EH), saline stress (Salino) and a control (T).

	Variables fisiológicas			Variables vegetativas				Contenidos iónicos		
	$\Psi_L$ (Mpa)	A $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	$g_s$ mmol H <sub>2</sub> O $\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	$\Psi_{\pi H}$ (Mpa)	LB* (m)	AF (m <sup>2</sup> )	$C_{planta}$ (g)	$C_{raiz}/C_{aérea}$	Na <sup>+</sup> Planta (mg)	Cl <sup>-</sup> Planta (mg)
<b>Portainjertos</b>										
1103P	-1,1	8,3	339	-2,1	6,22	0,9	229	0,9	537 a	1132
101-14Mgt	-1,2	8,0	292	-2,1	6,41	0,9	225	0,8	676 b	1098
Valor p	ns		ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,0273	ns
<b>Tratamiento</b>										
EH	-1,3 a	8,3	227 a	-2,1 ab	2,17 a	0,4 a	161 a	1,5 b	358 a	719 a
Salino	-1,3 a	5,0	285 a	-2,3 a	4,02 b	0,8 b	170 a	0,5 a	987 b	1809 b
T	-0,9 b	11,2	434 b	-1,8 b	12,75 c	1,6 c	349 b	0,5 a	474 a	818 a
Valor p	0,0001		0,0032	0,036	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Valor p P x T	ns	0,0246	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Letras distintas indican diferencias significativas en el test de Tukey para  $p < 0,05$ .

Different letters indicate differences at  $p < 0.005$  for the Tukey test.

\* Se utilizó análisis no paramétrico de Kruskal Wallis. / \* Nonparametric Kruskal Wallis analysis was used.



Las barras indican el error estándar, n = 4. / Bars indicate standard error, n = 4.

**Figura 1.** Fotosíntesis neta (A) en hojas de plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) sometidas a salinidad (Salino), estrés hídrico (EH) y sin estrés (T).

**Figure 1.** Net photosynthesis (A) in leaves of Cabernet Sauvignon on two rootstocks (1103P and 101-14Mgt) subjected to salinity (Salino), water deficit (EH) and unstressed control (T).



**Figura 2.** Plantas de Cabernet Sauvignon sobre el portainjerto 1103P sin condiciones de estrés (A), sometidas a salinidad (B) y a déficit hídrico (C).

**Figure 2.** Cabernet Sauvignon on 1103P grown without stress conditions (A), subjected to salinity (B) and under water deficit (C).

Con respecto al EH, la mayor relación  $C_{raiz}/C_{aéreo}$  respecto del T coincidió con lo observado por otros (1, 10, 30). En este trabajo, la disminución equiparable de  $\Psi_L$  se asoció con una disminución también equiparable de biomasa en los dos tipos de estrés. Esto hace pensar que en Salino ocurrió, sobre todo, un efecto osmótico.

La falta de síntomas de toxicidad en Salino avala esta conjetura, lo cual concuerda con las ideas establecidas que el efecto osmótico precede al tóxico, y que ambas se encuentran separadas en el tiempo (24).

Al analizar los contenidos totales de iones  $Na^+$  ingresados a la planta se observaron diferencias entre tratamientos y portainjertos. El tratamiento Salino aumentó el contenido de  $Na^+$  en la planta un 137% con respecto T y EH (tabla 1, pág. 39).

Las plantas injertadas sobre 1103P acumularon un 21% menos de  $Na^+$  que las injertadas sobre 101-14Mgt. Esto indicaría que 1103P posee un mayor poder de exclusión. Este fenómeno también fue observado por otros autores (7, 35, 36).

El tratamiento salino aumentó la concentración de  $Cl^-$  en todos los órganos de la planta, pero no hubo diferencias en la acumulación de este anión entre portainjertos. Este resultado contradice lo observado en otras investigaciones que muestran un mayor poder de exclusión de  $Cl^-$  en 1103P con respecto a otros portainjertos (7, 35, 36). A pesar de que el portainjerto 1103P pudo excluir más el

$Na^+$  que el 101-14Mgt, este no se asoció con diferencias en biomasa, como tampoco con síntomas de toxicidad. Esto evidencia que 101-14Mgt podría considerarse como un portainjerto medianamente adecuado para salinidad. En otros estudios también se observó que 101-14Mgt presentaba un buen comportamiento bajo condiciones salinas (19).

## CONCLUSIONES

En este estudio preliminar, se puede concluir que ambos tipos de estrés reducen en forma semejante la biomasa de la planta entera, aunque la partición es diferente. El estrés hídrico afecta más la acumulación de biomasa de la parte aérea y el estrés salino el de la raíz, a un mismo nivel de potencial hídrico foliar.

El estrés hídrico disminuye más la longitud de brotes y la superficie foliar que el estrés salino a un mismo nivel de potencial hídrico foliar.

El estrés salino provoca un mayor ajuste osmótico en las hojas que el estrés hídrico a un mismo nivel de potencial hídrico foliar.

A pesar que el comportamiento de plantas de Cabernet Sauvignon injertadas sobre 1103P fue similar a 101-14Mgt, la mayor exclusión de iones tóxicos en 1103P lo hace más propicio ante situaciones de salinidad.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Alsina, M. M.; Smart, D. R.; Bauerle, T.; De Herralde, F.; Biel, C.; Stockert, C.; Negron, C.; Save, R. 2011. Seasonal changes of whole root system conductance by a drought-tolerant grape root system. *Journal of Experimental Botany*. 62(1): 99-109.
2. Bauerle, T. L.; Smart, D. R.; Bauerle, W. L.; Stockert, C.; Eissenstat, D. M. 2008. Root foraging in response to heterogeneous soil moisture in two grapevines that differ in potential growth rate. *New Phytologist*. 179(3): 857-866.
3. Carbonneau, A. 1985. The early selection of grapevine rootstocks for resistance to drought conditions. *American J. Enol. Vitic.* 36(3): 195-198.
4. Chaves, M. M.; Flexas, J.; Pinheiro, C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of botany*. 103(4): 551-560.
5. Chaves, M. M.; Zarrouk, O.; Francisco, R.; Costa, J. M.; Santos, T.; Regalado, A. P.; Rodrigues, M. L.; Lopes, C. M. 2010. Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of botany*. 105(5): 661-676.
6. Cramer, G. R.; Ergül, A.; Grimplet, J.; Tillett, R. L.; Tattersall, E. A. R.; Bohlman, M. C.; Vincent, D.; Sonderegger, J.; Evans, J.; Osborne, C.; Quilici, D.; Schlauch, K. A.; Schooley, D. A.; Cushman, J. C. 2007. Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles. *Funct. Integr. Genomics*. 7: 111-134.
7. Di Filippo, M.; Venier, M.; Filippini, M. F.; Vila, H. 2012. Tolerancia a estrés salino de algunos portainjertos de vid combinados con la cv Malbec. *Actas de las VI Jornadas de actualización en riego y fertirriego*, 7, 8 y 9 Noviembre de 2012, Mendoza, Argentina.
8. Ezzahouani, A.; Williams, L. E. 1995. The influence of rootstock on leaf water potential, yield, and berry composition of Ruby Seedless grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 4: 559-563.
9. FAO. 2008. Land and plant nutrition management service. Available en: <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>.
10. Fernández, M. E.; Passera, C. B.; Cony, M. A. 2016. Sapling growth, water status and survival of two native shrubs from the Monte Desert, Mendoza, Argentina, under different preconditioning treatments. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina*. 48(1): 33-47.
11. Filippini, M. F.; Bermejillo, A.; Marti, L.; Troilo, S. 1997. Composición mineral de las plantas cultivadas. *Guía de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Química Agrícola. Facultad de Ciencias Agrarias*. 56 p.
12. Fisarakis, I.; Chartzoulakis, K.; Stavarakas, D. 2001. Response of Sultana vines (*V. vinifera* L.) on six rootstocks to NaCl salinity exposure and recovery. *Agricultural Water Management*. 51: 13-27.
13. Flexas, J.; Bota, J.; Loreto, F.; Cornic, G.; Sharkey, T. D. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*. 6(3): 269-279.
14. Hardie, W. J.; Ciramí, R. M. 2000. Grapevine rootstocks. En: Coombe, B.G.; Dry, P. R. *Viticulture*. Adelaide: Winetitles. Volumen. 1: 154-176.
15. Hepaksoy, S.; Ben-Asher, J.; De Malach, Y.; David, I.; Sagih, M.; Bravdo, B. 2006. Grapevine irrigation with saline water: Effect of rootstocks on quality and yield of Cabernet Sauvignon. *Journal of plant nutrition*. 29(5): 783-795.
16. Iacono, F.; Buccella, A.; Peterlunger, E. 1998. Water stress and rootstock influence on leaf gas exchange of grafted and ungrafted grapevines. *Scientia Horticulturae*. 75(1): 27-39.
17. Keller, M. 2010. *The science of grapevines. Anatomy and physiology*. Academic press, Elsevier, Burlington USA: 210-213.
18. Koundouras, S.; Tsialtas, I. T.; Zioziou, E.; Nikolaou, N. 2008. Rootstock effects on the adaptive strategies of grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet-Sauvignon) under contrasting water status: Leaf physiological and structural responses. *Agriculture, ecosystems & environment*: 128(1): 86-96.

19. Martín, L.; Vila H. 2013. Evaluación de tolerancia al NaCl en cultivares viníferas y portainjertos híbridos del género *Vitis*. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 45(2): 165-180.
20. Mass, E. V.; Hoffman, G. F. 1977. Crop salt tolerant. Current assessment. ASCE Journal of Irrigation and Drainage Division. 103: 116-134.
21. McCarthy, M. G.; Cirami, R. M.; Furkaliev, D. G. 1997. Rootstock response of Shiraz (*Vitis vinifera*) grapevines to dry and drip-irrigated conditions. Australian Journal of Grape and Wine Research. 3(2): 95-98.
22. Meggio, F.; Prinsi, B.; Negri, A. S.; Simone Di Lorenzo, G.; Lucchini, G.; Pitacco, A.; Espen, L. 2014. Biochemical and physiological responses of two grapevine rootstock genotypes to drought and salt treatments. Australian Journal of Grape and Wine Research. 20(2): 310-323.
23. Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment, 25: 239-250.
24. Munns, R.; Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. The Annual Review of Plant Biology: 59, 651-681.
25. Padgett-Johnson, M.; Williams, L. E.; Walker, M. A. 2003. Vine water relations, gas exchange, and vegetative growth of seventeen *Vitis* species grown under irrigated and nonirrigated conditions in California. Journal of the American Society for Horticultural Science. 128(2): 269-276.
26. Sadzawka, A.; Grez, R.; Carrasco, M. A.; Mora, M. L. 2004. Métodos de Análisis de tejidos vegetales Santiago, Chile.
27. Silveira, J. A. G.; Araújo, S. A. M.; Lima, J. P. M. S.; Viégas, R. A. 2009. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia*. Environmental and Experimental Botany. 66(1): 1-8.
28. Soar, C. J.; Dry, P. R.; Loveys, B. R. 2006. Scion photosynthesis and leaf gas exchange in *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz: mediation of rootstock effects via xylem sap ABA. Australian Journal of Grape and Wine Research. 12(2): 82-96.
29. Tregeagle, J. M.; Tisdall, J. M.; Tester, M.; Walker, R. R. 2010. Cl-uptake, transport and accumulation in grapevine rootstocks of differing capacity for Cl-exclusion. Functional Plant Biology. 37(7): 665-673.
30. Vila, H. F. 2012. Tesis presentada para el grado de Doctor en Biología. Posgrado en Biología Probiol, UNCuyo, Mendoza, Argentina.
31. Upreti, K. K.; Murti, G. S. R. 2010. Response of grape rootstocks to salinity: changes in root growth, polyamines and abscisic acid. Biologia Plantarum. 54(4): 730-734.
32. Vincent, D.; Ergül, A.; Bohlman, M. C.; Tattersall, E. A. R.; Tillet, R. L.; Wheatley, M. D.; Cramer, G. R. 2007. Proteomic analysis reveals differences between *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay and cv. Cabernet Sauvignon and their responses to water deficit and salinity. Journal of Experimental Botany. 58(7): 1873-1892.
33. Walker, R. R.; Törökfalvy, E.; Scott N. S.; Kriedemann, P. E. 1981. An analysis of photosynthetic response to salt treatment in *Vitis vinifera*. Australian J. Plant Physiology. 8: 359-374.
34. Walker, R. R.; Blackmore, D. H.; Clingeleffer, P. R.; Correll, R. L. 2002. Rootstock effects on salt tolerance of irrigated field-grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sultana). 1. Yield and vigour inter-relationships. Australian Journal of Grape and Wine Research. 8(1): 3-14.
35. Walker, R. R.; Blackmore, D. H.; Clingeleffer, P. R.; Correll, R. L. 2004. Rootstocks effects on salt tolerance of irrigated field-grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sultana). 2. Ion concentrations in leaves and juice. Australian Journal of Grape and Wine Research. 10(2): 90-99.
36. Walker, R. R.; Blackmore, D. H.; Clingeleffer, P. R. 2010. Impact of rootstock on yield and ion concentrations in petioles, juice and wine of Shiraz and Chardonnay in different viticultural environments with different irrigation water salinity. Australian Journal of Grape and Wine Research. 16(1): 243-257.
37. Williams, L. E. 2010. Interaction of rootstock and applied water amounts at various fractions of estimated evapotranspiration (ETc) on productivity of Cabernet Sauvignon. Australian Journal of Grape and Wine Research. 16: 434-444.

## Consumo de nitrógeno por cultivares de caña de azúcar en Tabasco, México

### Consumption of nitrogen by cultivares of sugar in Tabasco, Mexico

Sergio Salgado García <sup>1</sup>, José Izquierdo Hernández <sup>2</sup>,  
Luz del Carmen Lagunes Espinoza <sup>1</sup>, David Jesús Palma López <sup>1</sup>,  
Samuel Córdova Sanchez <sup>3</sup>, Hipólito Ortiz Laurel <sup>4</sup>, Mepivoseth Castelán Estrada <sup>1</sup>

Originales: *Recepción:* 24/08/2015 - *Aceptación:* 16/11/2016

#### RESUMEN

La eficiencia en la toma de nitrógeno por cultivares de caña de azúcar no está relacionada directamente con los rendimientos de tallos por hectárea. Los objetivos fueron determinar el efecto de la fertilización nitrogenada en la calidad de jugo, rendimiento, consumo de nitrógeno y rentabilidad. El estudio se realizó en el Ingenio Azsuremex, (Tenosique, Tabasco), durante el ciclo de caña planta 2014/2015, bajo condiciones de cultivo sin riego suplementario en un suelo Cambisol háplico. Se evaluó las dosis de N: 0, 120 y 180 kg.ha<sup>-1</sup> en 10 cultivares de caña de azúcar. Los resultados muestran que la dosis alta de N afectó negativamente la calidad del jugo. Se observó una respuesta lineal positiva en el rendimiento, a excepción del cultivar MEX 69-290 que presentó el rendimiento más alto con 120 kg.N.ha<sup>-1</sup>. El consumo de N fue diferente entre cultivares y aumentó conforme se incrementó la dosis de N. El índice de eficiencia interna (EI) de utilización del nitrógeno varió de 1,6 a 2,0 kg de N por tonelada de tallo. En cinco de los cultivares evaluados es rentable fertilizar con las dosis de 120 y/o 160 kg.ha<sup>-1</sup> de N.

#### Palabras clave

índice de eficiencia • rendimiento de tallos • calidad de jugo

- 
- 1 Áreas de Ciencia Ambiental y Vegetal. Colegio de Postgraduados, Grupo MASCAÑA. Campus Tabasco. 86500 H. Cárdenas, Tabasco, México.
  - 2 Programa de Maestría en Ciencias en Producción Agroalimentaria en el Trópico (PROPAT), Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco.
  - 3 División de Ciencias Básicas e Ingenierías, Universidad Popular de la Chontalpa, CA-QVDS - Grupo MASCAÑA. Carr. Cárdenas - Huimanguillo, Km. 2.0, Cárdenas, Tabasco, México. CP 86500. sacorsa\_1976@hotmail.com
  - 4 Área de Mecanización Agrícola. Colegio de Postgraduados, Grupo MASCAÑA. Campus Córdoba. 94946 Amatlán de los Reyes, Veracruz, México.

**ABSTRACT**

Efficiency in taking nitrogen sugarcane cultivars is not directly related yields stems per hectare. The objectives were to determine the effect of nitrogen fertilization on juice quality, performance, nitrogen demand and profitability. The study was conducted in the sugar factory Azsuremex (Tenosique, Tabasco) during the 2014/2015 cycle plant cane, under culture conditions without supplemental irrigation on soil Cambisol haplico. N rates were evaluated: 0, 120 and 180 kg ha<sup>-1</sup> in 10 sugarcane cultivars. The results show that high doses of N adversely affected the quality of the juice. A positive linear response on performance, except MEX 69-290 cultivar presented the highest performance 120 kg.N.ha<sup>-1</sup> was observed. N consumption was different between cultivars and increased as the dose of N. The internal efficiency index (EI) of nitrogen utilization ranged from 1.6 to 2.0 kg N per tons stem increased. In five of the evaluated cultivars is profitable fertilize with doses of 120 and/or 160 kg ha<sup>-1</sup> of N.

**Keywords**

efficiency index • performance stems • juice quality

**INTRODUCCIÓN**

En los últimos años, el uso racional del nitrógeno como fertilizante para el cultivo de caña de azúcar, ha demandado la atención de los especialistas en fertilidad de suelos y en economía, dada la necesidad creciente de conservar el ambiente y al incremento del precio de los fertilizantes (9, 10, 18).

El campo cañero del Ingenio Azsuremex (IA) está integrado por 17 cultivares (20) y las dosis de NPK que actualmente se aplican se generaron sin considerar el cultivar como un factor más (21), desconociéndose hasta el momento si el requerimiento de nitrógeno (N) es diferente entre cultivares. Al respecto, diversos investigadores han demostrado que existen diferencias entre cultivares en el uso de nitrógeno en caña de azúcar, indicando la necesidad de generar recomendaciones de dosis de fertilizante nitrogenado específicas por cultivar (11, 15, 16, 23, 25).

En el caso específico del campo cañero del IA, uno de los requisitos primordiales

para mejorar las dosis de fertilización nitrogenada es conocer la variación en el requerimiento de este elemento entre diferentes cultivares (13).

**Objetivos**

Determinar la variación en el consumo de nitrógeno y su eficiencia de uso. Evaluar el efecto de la fertilización nitrogenada sobre la calidad de jugo y el rendimiento de tallos de diferentes cultivares de caña de azúcar.

Analizar el impacto económico de la fertilización nitrogenada en el área de abastecimiento del IA.

**MATERIALES Y MÉTODOS****Ubicación del sitio experimental**

El experimento se llevó a cabo en condiciones de cultivo sin riego suplementario, en el ciclo de caña planta 2014/2015, en el área de abastecimiento del IA ubicado en el municipio de Tenosique, Tabasco.

El sitio de estudio se situó en el Ejido Rancho Grande, a 17°25' LN y 91°24' LO.

El suelo fue un Cambisol háplico (límico-éutrico-calcárico) (18). La precipitación durante la fase experimental osciló entre 38,8 mm y 411,1 mm y la temperatura entre 26,7°C y 34,3°C (figura 1) (4, 5).

### Preparación del terreno

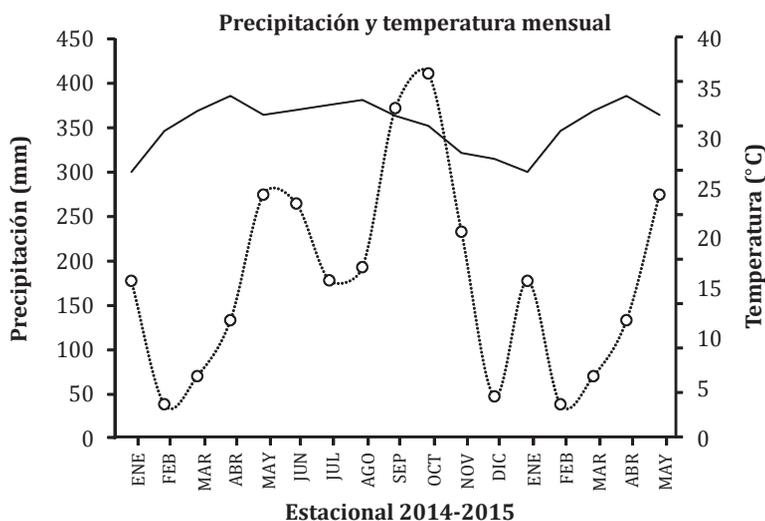
Esta labor consistió en el volteo de la cepa anterior, tres pases de rastra cruzada y el surcado a una separación entre hileras de 1,3 m.

La siembra se realizó de forma manual a doble cordón punta y cola el 12 de enero del 2014 con los cultivares: COLPOSCTMEX 06-039, COLPOSCTMEX 06-271, COLPOSCTMEX 06-474,

COLPOSCTMEX 06-2362, COLPOSCTMEX 05-223, ATEMEX 96-40, RD 75-11, MEX 69-290, MEX 68-P23 y CP 72-1210, cinco de estas fueron provenientes del Colegio de Postgraduados-Campus Tabasco, las cuales están en un avanzado estado de selección y cinco de productores de la zona del IA de plantaciones de 10 meses de edad, las cuales ya están establecidas de manera comercial, cabe mencionar que los materiales provienen de banco de semillas libres de plagas y enfermedades.

### Manejo agronómico

El control de maleza consistió en la aplicación del herbicida Diuron, como pre-emergente al cultivo y la maleza.



**Figura 1.** Distribución de lluvias y temperatura durante el ciclo platilla de caña de azúcar en campo en Tenosique, Tabasco.

**Figure 1.** Distribution of rainfall and temperature during the cycle platilla sugar cane field in Tenosique, Tabasco.

La fertilización se realizó de forma manual y superficial sobre la cepa de caña el 8 de marzo del 2014. Se aplicó las dosis de fertilizante nitrogenado (0, 120 y 180 kg.ha<sup>-1</sup>) a los dos meses de edad del cultivo, usando Urea (46% N) como fuente de nitrógeno, en una sola aplicación y complementada con 60 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y 100 kg de K<sub>2</sub>O por hectárea, con las fuentes Superfosfato triple (SPT) y Cloruro de potasio (KCl). Así mismo, se efectuó un pase de cultivo con una cultivadora de ganchos después de la fertilización. Posteriormente se aplicó un herbicida post-emergente (Hexaxinona + Diuron) al inicio del ciclo de lluvias, sumado a esto se realizó un control de maleza de forma manual y una aplicación de herbicida Picloram + 2,4-D Amina para el control de malezas de hoja ancha, esto de acuerdo con el paquete tecnológico generado por el Grupo MASCAÑA (Manejo Sustentable de la Caña).

### Diseño experimental y tratamientos

Se utilizó el diseño de parcelas divididas, donde la parcela principal fueron tres dosis de N y las subparcelas 10 cultivares de caña de azúcar. El diseño generó 30 tratamientos con cuatro repeticiones generando en total 120 parcelas experimentales. Cada parcela experimental fue de 4 surcos x 12 m lineales.

### Variables de estudio

#### Calidad del jugo

Al momento de la cosecha, se tomó una muestra de cada parcela experimental. Se cortó tres tallos primarios, de cada uno se tomaron cinco entrenudos y seis nudos de la parte superior, tres entrenudos y cuatro nudos de la parte intermedia, y dos entrenudos y tres nudos de la base. Esto para hacer una muestra compuesta de dos kilogramos, las cuales se pusieron en bolsas de polietileno y seguidamente se introdujeron en una nevera con hielo para posteriormente llevarlas al laboratorio de campo del departamento de

precosecha del Ingenio Presidente Benito Juárez (IPBJ), con la finalidad de determinar la calidad de jugo; se utilizó el método Pol ratio (licuadora): Brix, porcentaje de sacarosa, pol, humedad, pureza, fibra y azúcares reductores de acuerdo con la norma mexicana NMX-F-271-1991.

Es importante destacar que el estado de madurez de los cultivares fue de manera natural y sin aplicación de maduradores.

#### Rendimiento (TCH)

La cosecha se llevó a cabo a los 14 meses de edad del cultivo. Se contaron los tallos molibles en 10 m de longitud de los dos surcos centrales para obtener el número de tallos por metro lineal y posteriormente este valor, se multiplicó por 7692 que es la cantidad de metros lineales ha<sup>-1</sup> de caña surcada a 1,3 m de distancia. Se tomó una muestra de 10 tallos por surco, los cuales se pesaron con hojas y sin hojas para obtener el peso promedio de los tallos y de la hoja (paja). Con ello se obtuvo el rendimiento en toneladas de caña por hectárea (TCH) de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$Ren (tha^{-1}) = (\text{Peso promedio de tallos sin hojas}) \times (\text{Números de tallos } ha^{-1})$$

#### Consumo de nitrógeno

En cada tratamiento se determinó el contenido de materia seca de tallo y paja, tomando una muestra de 500 g respectivamente de cada uno de los componentes mencionados y se pusieron en bolsas de papel. Se introdujeron en una estufa de flujo de aire a 65°C por 72 horas, de esta se tomó una submuestra para determinar la concentración de nitrógeno en cada componente y así determinar el consumo de este nutriente (kg.ha<sup>-1</sup>). Se determinó el índice de eficiencia interna de utilización de nitrógeno (EI), utilizando la siguiente ecuación:

$$EI = \frac{\text{Consumo de nitrógeno (kg.ha}^{-1}\text{)}}{\text{Rendimiento de caña (tha}^{-1}\text{)}} \quad (1)$$

### Análisis económico de la fertilización nitrogenada

Se realizó de acuerdo con la metodología del CIMMYT (3), donde el tratamiento óptimo económico es aquel que proporciona la máxima tasa de retorno. Para el cálculo de los costos variables de los tratamientos de fertilización, se consideraron los costos del flete del fertilizante a la parcela, carga y descarga, el costo de la aplicación manual y el costo del fertilizante tomando como referencia los precios de la Urea, SPT y KCl de FYPA S.A., precios vigentes al 18 de junio del 2015 (tabla 1).

El precio de la caña para la zafra 2013/2014 para el IA fue US\$ 20.96 t de caña (2), el cual, junto con el rendimiento (TCH) se usaron como base para determinar el ingreso neto más los costos fijos (IN+CF) (US\$.ha<sup>-1</sup>).

### Análisis estadístico

Para las variables; rendimiento y consumo de nitrógeno, se realizó el análisis de varianza con el diseño de parcelas divididas y, la prueba de Tukey para determinar las diferencias significativas entre cultivares y dosis de N, utilizando para ello el paquete estadístico SAS versión 9,0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis de suelo

Según la Norma oficial mexicana (NOM-021-RECNAT-2000), el suelo presentó un pH medianamente alcalino, sin problemas de salinidad, el contenido de materia orgánica (MO) muy rico; contenidos altos de nitrógeno total, fósforo, potasio, calcio y magnesio y contenidos bajos de boro.

Así como contenidos adecuados de hierro, cobre, manganeso y zinc; capacidad de intercambio catiónico (CIC) alta y una textura de clases franco arcilloso (tabla 2) (12).

**Tabla 1.** Cálculo de los costos variables (US\$.ha<sup>-1</sup>) para los tratamientos de fertilización.

**Table 1.** Calculation of variable costs (US\$.ha<sup>-1</sup>) for NPK fertilization treatments.

Variables	00-60-100		120-60-100		180-60-100	
	Jornales	(US\$.ha <sup>-1</sup> )	Jornales	(US\$.ha <sup>-1</sup> )	Jornales	(US\$.ha <sup>-1</sup> )
Costo del fertilizante N	-	-	-	93,77	-	140,66
Flete, carga y descarga N	-	-	-	5,46	-	8,20
Costo aplicación N	-	-	2	16,39	3	24,59
Costo del P		67,87	-	67,87	-	67,87
Flete, carga y descarga P	-	2,73	-	2,73	-	2,73
Costo aplicación P	1	8,20	1	8,20	1	8,20
Costo del K	-	63,93	-	63,93	-	63,93
Flete, carga y descarga K	-	2,73	-	2,73	-	2,73
Costo aplicación K	1	8,20	1	8,20	1	8,20
Costo variable		153,66		269,29		327,10

**Tabla 2.** Concentración de macro y micro nutrientes de fertilidad, salinidad y clasificación de suelo del experimento Rancho Grande (RG).**Table 2.** Concentration of macro and micronutrients fertility, salinity and soil classification experiment Big Ranch (BR).

pH (H <sub>2</sub> O)	CE	MO	Nt	P Olsen	B	K	Ca	Mg	Na	CIC
rel. 1:2	μS cm <sup>-1</sup>	%		mg kg <sup>-1</sup>		cmol kg <sup>-1</sup>				
7.71	129,5	5,00	0,26	11,30	0,88	3,41	25,94	13,83	0,13	29,99

Fe	Cu	Zn	Mn	Arcilla	Limo	Arena	Textura
mg kg <sup>-1</sup>				%			
5,40	2,32	0,47	9,58	46	47	7	Franco Arcilloso

### Calidad de jugo de los cultivares de caña de azúcar

Los valores de referencia de los parámetros de la calidad del jugo en México son: 12,5% de sacarosa en jugo, grados Brix de 18-22%, pureza de 79 al 89%, fibra de 11 al 15%, humedad entre 73 a 75% y azúcares reductores cercanos a cero, los cuales son valores mínimos aceptados por la agroindustria azucarera en México (18).

En el tratamiento sin aplicación de fertilizante nitrogenado, el cultivar MEX 69-290 presentó los valores más altos de sacarosa y Pol de 17,43 y 20,3% en jugo respectivamente y los más bajos en cuanto a fibra y azúcares reductores.

Sin embargo, con la dosis alta de N obtuvo un contenido adecuado para estas variables (15,99 y 18,58%) lo cual indica que la calidad de jugo de este cultivar no se ve afectada (negativamente) con dosis altas de N. Estos resultados coinciden con lo reportado por Salgado *et al.* (2003) para este cultivar y el MEX 68-P23 (18), señala que la calidad de jugo de estos cultivares no fue afectada por la aplicación de diferentes tratamientos de fertilización nitrogenada.

Con la dosis de 0 kg.N.ha<sup>-1</sup>, los cultivares COLPOSCTMEX 06-474, COLPOSCTMEX 06-2362 y CP 72-1210, no superaron el valor

de referencia de calidad de jugo en cuanto a sacarosa. Esto indica que con dicho tratamiento, estos materiales aún no completaban su madurez al momento de la cosecha.

Con la dosis de 120 kg.N.ha<sup>-1</sup> los 10 cultivares superaron los valores de referencia de los parámetros de calidad de jugo. El contenido de sacarosa y pol en COLPOSCTMEX 06-271 y CP 72-1210 con 180 kg.N.ha<sup>-1</sup> disminuyó (tabla 3, pág. 51), en comparación con las dosis 0 y 120 kg.N.ha<sup>-1</sup>, lo cual confirma que dosis altas de N afectan negativamente la calidad del jugo de estos cultivares.

### Rendimiento

Se observaron diferencias altamente significativas para el rendimiento de caña con respecto a las dosis de nitrógeno (N), cultivar (C) y la interacción NxC.

El coeficiente de variación de 8,3% indica alta precisión en la determinación de este parámetro. Los cultivares de caña incrementaron el rendimiento conforme aumentó la dosis de N.

De acuerdo con la prueba de Tukey los materiales COLPOSCTMEX 05-223 y RD 75-11, presentaron el rendimiento más alto y MEX 69-290 y COLPOSCTMEX 06-271 presentaron el rendimiento más bajo (tabla 4, pág. 52).

**Tabla 3.** Calidad de jugo de 10 cultivares de caña de azúcar con diferentes dosis de nitrógeno.**Table 3.** Juice quality of 10 sugarcane cultivar with different nitrogen rates.

Cultivar	Dosis N (kg.ha <sup>-1</sup> )	Calidad de jugo (%)				
		Brix	Sacarosa	Pol	A. Reductores	Fibra
COLPOSCTMEX 06-039	0	16,81	14,19	16,50	0,414	13,73
	120	14,8	13,15	15,26	0,437	13,68
	180	16,13	13,90	16,16	0,467	13,88
COLPOSCTMEX 06-271	0	14,8	13,10	15,20	0,437	13,73
	120	16,47	14,81	17,22	0,350	13,83
	180	12,78	10,92	12,64	0,424	13,70
COLPOSCTMEX 06-474	0	11,78	10,42	12,04	0,562	13,55
	120	14,11	12,62	14,64	0,487	13,98
	180	15,46	13,34	15,50	0,524	13,90
COLPOSCTMEX 06-2362	0	10,75	10,05	11,62	0,544	14,00
	120	14,48	13,54	15,68	0,438	13,30
	180	16,13	14,79	17,20	0,517	13,98
COLPOSCTMEX 05-223	0	14,79	13,80	16,02	0,424	13,83
	120	15,80	14,63	17,00	0,373	13,75
	180	14,79	13,20	15,32	0,403	13,80
ATEMEX 96-40	0	15,49	14,35	16,64	0,327	13,18
	120	16,49	14,08	16,36	0,437	13,50
	180	15,80	14,63	17,00	0,296	13,80
RD 75-11	0	16,48	13,64	15,86	0,518	13,70
	120	15,46	13,22	15,36	0,437	13,83
	180	18,53	16,76	19,50	0,253	13,15
MEX 69-290	0	19,54	17,43	20,30	0,263	13,08
	120	14,80	13,79	16,00	0,427	13,75
	180	17,86	15,99	18,58	0,367	13,10
MEX 68-P23	0	17,3	15,80	18,20	0,336	14,00
	120	17,81	16,65	19,40	0,373	14,00
	180	16,80	14,95	17,40	0,299	13,98
CP 72-1210	0	14,80	12,43	14,42	0,545	13,75
	120	17,15	15,13	17,60	0,366	13,78
	180	12,11	10,79	12,48	0,518	13,60

El rendimiento de los 10 cultivares osciló entre 84,1 y 128 t.ha<sup>-1</sup>. Se considera alto en comparación con el rendimiento promedio del área de estudio (60 t.ha<sup>-1</sup>) y los reportados por Palma-López *et al.* (2002) con valores de 71,1-123,2 t.ha<sup>-1</sup> en distintas unidades de suelo del área de abastecimiento del IA (13). Esto valores de cosecha, indican que la fertilización nitrogenada afectó positivamente el

rendimiento de los cultivares evaluados y por lo tanto constituye una práctica necesaria en el área de estudio para incrementar el rendimiento del cultivo.

Con respecto a la interacción Nx C, nueve de los diez cultivares en estudio presentaron el rendimiento más alto con la dosis de 180 kg.ha<sup>-1</sup> de N. Contrariamente, MEX 69-290 mostró mayor rendimiento con 120 kg N.ha<sup>-1</sup>.

**Tabla 4.** Rendimiento ( $t.ha^{-1}$ ) de 10 cultivares de caña de azúcar con diferentes dosis de nitrógeno.**Table 4.** Yield ( $t.ha^{-1}$ ) of 10 cultivars of sugarcane with different nitrogen rates.

Cultivares	Dosis N ( $kg.ha^{-1}$ )			Media cultivar
	0	120	180	
COLPOSCTMEX 06-039	95,0	92,3	123,3	103,5 cd
COLPOSCTMEX 06-271	82,8	86,5	91,2	86,8e
COLPOSCTMEX 06-474	101,3	109,1	120,6	110,3 bcd
COLPOSCTMEX 06- 2362	93,6	100,3	112,8	102,2 cd
COLPOS CTMEX 05-0223	104,3	126,9	153,0	128,0 a
ATEMEX 96-40	101,8	111,9	121,9	111,9 bc
RD 75 11	101,5	124,2	133,3	119,7 ab
MEX 69-290	70,7	93,2	88,2	84,1e
MEX 68 P23	103,0	108,7	129,2	113,6 bc
CP 72-1210	85,3	101,1	106,2	97,5 de
Media dosis (N)	93,6c	105,4b	118,0a	105,8
C.V (%)	8,3			
Prob. F:				
Dosis N (N)	0,01**			
Cultivar (C)	0,01**			
Interacción (NxC)	0,02**			

†Medias con la misma letra dentro de la hilera o columna son iguales estadísticamente. Prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

\*\*Altamente significativo.

†Means with the same letter in the same row or column are statistically. Tukey test ( $P \leq 0.05$ ).

\*\*Highly significant difference.

Los cultivares COLPOSCTMEX 06-039 y MEX 69-290 no mostraron un incremento lineal del rendimiento de acuerdo con el aumento en la dosis de N aplicada (tabla 4). Estos resultados son similares a los obtenidos por Fortes *et al.* (2013), quienes concluyeron que la fertilización nitrogenada promovió aumentos en el rendimiento durante el ciclo planta y socas 1 a 3, así como en el acumulado de los cuatro ciclos de cultivo (8).

## Consumo de nitrógeno

### Consumo de nitrógeno en tallos

De acuerdo con los valores del ANOVA de la tabla 5 (pág. 53), se encontró

diferencia significativa para el consumo de nitrógeno por los tallos (CNT) con respecto a la dosis de N y no significativa para el efecto del cultivar y la interacción NxC.

La prueba de Tukey muestra que el mayor CNT fue con la dosis de  $180 kg.N.ha^{-1}$  y el más bajo con la dosis testigo, lo cual indicaría que el CNT depende de la dosis de N aplicada e independientemente del cultivar utilizado (tabla 5, pág. 53).

El valor promedio del CNT de los 10 cultivares con las tres fue de  $91 kg.ha^{-1}$ , indica la cantidad del nutriente que el cultivo de caña de azúcar extrae y que no se reintegra al ciclo del nitrógeno en el suelo, debido a la cosecha de los tallos y su posterior traslado a la fábrica.

**Tabla 5.** Consumo de nitrógeno ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) de 10 cultivares de caña de azúcar con diferentes dosis de nitrógeno.**Table 5.** Nitrogen consumption ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) of 10 sugarcane cultivar with different nitrogen rates.

Cultivares	Consumo de N. $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ (promedios cultivar)		
	Tallo	Paja	Total
COLPOSCTMEX 06-039	95,1 a	106,8 abc	202,0 ab
COLPOSCTMEX 06-271	67,4 a	92,8 abc	160,3 b
COLPOSCTMEX 06-474	109,9 a	106,5 abc	216,4 ab
COLPOSCTMEX 06- 2362	76,6 a	109,0 abc	185,7 ab
COLPOSCTMEX 05-0223	100,8 a	108,8 abc	209,6 ab
ATEMEX 96-40	88,3 a	102,8 abc	191,1 ab
RD 75 11	89,6 a	124,5 a	214,1 ab
MEX 69-290	76,9 a	84,0 c	160,9 b
MEX 68 P23	116,5 a	116,1 ab	232,5 a
CP 72-1210	91,6 a	82,4 c	174,0 ab
Media dosis (N): 0 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$	74,1 b	86,1 c	160,3 c
120 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$	86,9 ab	105,7 b	195,3 b
180 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$	109,9 a	118,2 a	227,6 a
C.V (%)	35,1	18,8	18,9
Prob. F:			
Dosis N (N)	0,0008 **	0,0001 **	0,0001 **
Cultivar (C)	0,07 NS	0,0004 **	0,0009 **
Interacción (N*C)	0,1 NS	0.6NS	0,1NS

† Medias con la misma literal dentro de la hilera o columna son iguales estadísticamente. Prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). NS: no significativo.

\*\* Altamente significativo.

† Means with the same letter in the same row or column are statistically equivalent. Tukey test ( $P \leq 0.05$ ). NS: not significant.

\*\* Highly significant.

Esta cantidad es la que se debería aplicar en las dosis de fertilizantes, lógicamente afectándola con la eficiencia de utilización del fertilizante.

#### Consumo de nitrógeno en la paja (CNP)

Para el consumo de nitrógeno de la paja (CNP) se observa diferencia altamente significativa para el efecto de dosis de nitrógeno (N) y cultivar (C), siendo no significativa para la interacción NxC.

Se observó una respuesta lineal en el CNP con respecto a las dosis de N aplicadas.

La prueba de Tukey indica que el CNP más alto lo obtuvo el cultivar RD 75-11, seguido del MEX 68-P23; mientras que el MEX 69-290 y CP 72-1210 presentaron el CNP más bajo. El resto de los cultivares formó un grupo con valores intermedios para esta variable.

El promedio del CNP en los 10 cultivares de caña de azúcar fue  $103,4 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , lo cual hace evidente la importancia

de incorporar al suelo los residuos de cosecha de este cultivo para aumentar el contenido de materia orgánica del mismo. En su defecto esto aportaría a dicho sistema, cantidades importantes de N, lo cual puede contribuir a la disminución de las dosis de N recomendadas para el área de estudio (tabla 5, pág. 53). Tal como lo observó para el caso del fertilizante fosfatado que, al adicionarse con cachaza, mejoró la actividad microbiana, la disponibilidad del P en el suelo y su acumulación en las plantas de caña de azúcar (Saucedo *et al.*, 2015).

#### **Consumo de nitrógeno total (CNTo)**

De acuerdo con los resultados del ANOVA, se encontró diferencia significativa para el consumo de nitrógeno total de los cultivares de caña de azúcar (CNTo) con respecto a las dosis de nitrógeno (N) y cultivar (C), y no significativa con respecto a la interacción NxC.

El CNTo presentó una respuesta lineal con respecto al incremento de la dosis de N aplicado, siendo mayor en la dosis de 180 kg.ha<sup>-1</sup>. Los cultivares tienden a consumir más nitrógeno para producir mayor cantidad de materia seca total.

Con respecto a la prueba de Tukey, MEX 68-P23 presentó el más alto CNTo (232,5 kg.ha<sup>-1</sup>), mientras que COLPOSCTMEX 06-271 y MEX 69-290 obtuvieron el CNTo más bajo (tabla 5, pág. 53).

El valor promedio de CNTo de los cultivares fue 194,4 kg.N.ha<sup>-1</sup>, similar a 190 kg.N.ha<sup>-1</sup> reportado por Franco *et al.* (2011).

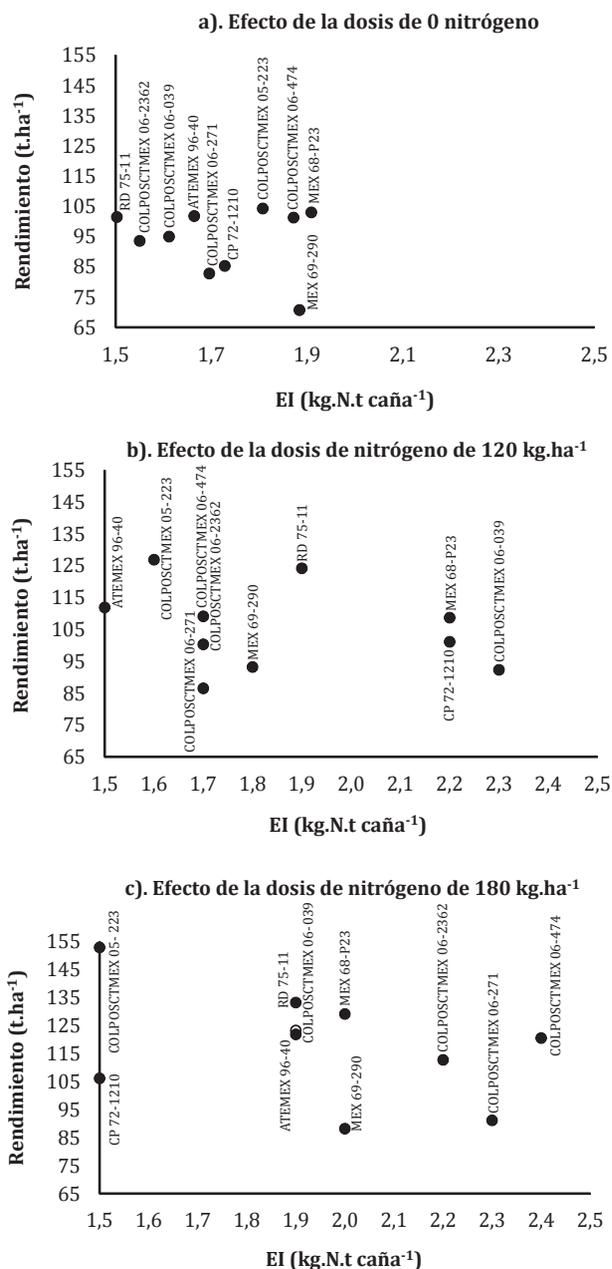
Los cultivares COLPOSCTMEX 06474 y MEX 68-P-23, presentan similar consumo de nitrógeno en tallo y paja (tabla 5, pág. 53), la CP72-1210 muestra mayor consumo de nitrógeno en tallo y el resto presentan el mayor consumo de nitrógeno en paja.

El consumo de nitrógeno de los 10 cultivares varía de 160,3 a 232,5 kg.ha<sup>-1</sup>, y en todos los casos fue mayor que la dosis de N aplicado. Esto indicaría que cantidades importantes de N consumido por el cultivo fue derivado de otras fuentes como pueden ser la mineralización de la materia orgánica del suelo (7), la incorporación y posterior mineralización de los residuos de cosecha anterior (6, 8), la fijación biológica de N por microorganismos presentes en el suelo (24) y por las precipitaciones con tormentas eléctricas en el área de estudio durante el experimento.

#### **Índice de eficiencia interna de utilización de nitrógeno (kg.N.t<sup>-1</sup> caña producida)**

De acuerdo con el índice de eficiencia interna de nitrógeno (IE) los cultivares sin fertilizar se clasificaron en bajo < 1,7, medio >1,7-1,9 y alto >1,9; lo que permitió dividir los cultivares en cuatro grupos, de acuerdo con el rendimiento de tallos molibles y al IE (figura 2a, pág. 55): Como Grupo I el Cultivar COLPOSCTMEX-06-271 de bajo rendimiento y bajo IE, Grupo II los cultivares CP 72-1210 y MEX 69-290 de bajo rendimiento y medio IE. Grupo III con alto rendimiento y bajo IE los cultivares RD 75-11, ATEMEX 96-40, COLPOSCTMEX 06-039, COLPOSCTMEX 06-2362, y Grupo IV los cultivares COLPOSCTMEX 05-223, MEX 68-P-23, COLPOS-06-474 con alto rendimiento y medio IE, respectivamente.

Al fertilizar con 120 kg.ha<sup>-1</sup> de N, se observa un cambio en el rendimiento y en el EI. El cultivar COLPOSCTMEX-06-271 al no responder a la fertilización, es la única en presentar bajo rendimiento y bajo índice de eficiencia. El resto de los cultivares se consideran de alto rendimiento y se pueden diferenciar por su bajo, medio y alto IE (figura 2b, pág. 55).



**Figura 2.** Relación entre el rendimiento (t.ha<sup>-1</sup>) y el índice de eficiencia interna de utilización de nitrógeno (EI) (kg.N.t<sup>-1</sup> caña producida) de diez cultivares de caña de azúcar.

**Figure 2.** Relationship among yield (t.ha<sup>-1</sup>) and the index of internal efficiency of nitrogen utilization (EI) (kg.N.t<sup>-1</sup> cane produced) for ten cultivar of sugarcane.

Con la aplicación de 180 kg.ha<sup>-1</sup> de N, se observa un incremento en el rendimiento y en el EI (figura 2c, pág. 55).

En los cultivares MEX 69-290 y COLPOSCTMEX 06-271, un mayor consumo de N, no conduce a un incremento en el rendimiento.

El índice de eficiencia varió de 1,5 a 2,4 en los 10 cultivares y se considera alto en comparación con el índice de utilización de N de 1,0-1,5 que reporta Pineda *et al.* (2014). Este autor, también señala que este índice en la práctica no se respeta, ya que es común encontrar valores por encima de 1,5 y ocasionalmente hasta de 3 o más, sin que los beneficios sobre el rendimiento justifiquen el exceso de nutrientes. Por ello, se sugiere utilizar esta información para ajustar la dosis de N según el EI de cada cultivar de caña de azúcar.

#### **Análisis económico de la fertilización nitrogenada**

Los cultivares COLPOS CTMEX 05-0223, RD 75-11 y MEX 69-290, con la dosis de 120 kg.N.ha<sup>-1</sup>, generan una tasa de retorno al capital variable (TRCV) de US\$ 0,10 respectivamente, por cada US\$ 0,05 invertido en fertilizante nitrogenado; lo cual corrobora que la dosis recomendada por Salgado *et al.* (2008) para este suelo es adecuada al producir los mayores incrementos en el rendimiento de caña de azúcar (tabla 6, pág. 57).

Los cultivares COLPOSCTMEX 06-039, COLPOS CTMEX 05-0223, RD 75-11 y MEX 68P23, con la dosis de 160 kg.N.ha<sup>-1</sup>, generan una tasa de retorno al capital variable (TRCV) > US\$ 0,09, por cada US\$ 0,05 invertido en fertilizante nitrogenado.

Corroborando la alta rentabilidad de la fertilización nitrogenada en el cultivo de caña de azúcar.

Los valores de la TRCV son bajos por el bajo precio de la caña, ya que incrementos de rendimiento > 10 t.ha<sup>-1</sup>, se consideran alentadores en muchas regiones cañeras del mundo, pero no en este caso. El resto de los cultivares, no superó la tasa de retorno mínima del 50% para productores de capital limitado, lo cual indicaría que en el ciclo de plantilla no deben fertilizarse ya que económicamente no es rentable (3).

#### **CONCLUSIONES**

Altas dosis de nitrógeno pueden afectar negativamente la calidad de jugo de caña de azúcar; aunque esto depende directamente del cultivar utilizado. El rendimiento de caña fue diferente entre cultivares. Se observó una respuesta lineal positiva con respecto al incremento en la aplicación de fertilizante N, a excepción del MEX 69-290 que presentó el rendimiento más alto con la dosis 120 kg.N.ha<sup>-1</sup>. En el suelo Cambisol háplico (límico-éutrico-calcárico), el rendimiento de caña depende del cultivar utilizado y la dosis de N aplicada, así como de las condiciones edáficas, ambientales y la fecha de siembra y cosecha.

El consumo de nitrógeno del cultivar aumentó conforme se incrementó la dosis de N aplicada.

El MEX 68-P23 fue el cultivar con el mayor consumo de N (232,5 kg ha<sup>-1</sup>); mientras que el MEX 69-290 y COLPOSCTMEX 06-271 fueron los cultivares con el menor consumo de N (160,9 y 160,3 kg.ha<sup>-1</sup> respectivamente).

**Tabla 6.** Análisis económico de la fertilización nitrogenada para 10 cultivares de caña de azúcar y tres dosis NPK en el Ingenio HG.**Table 6.** Economic analysis of nitrogen fertilization of 10 sugarcane cultivars and three rates NPK in Sugar mill HG.

Cultivares	Dosis N (kg.ha <sup>-1</sup> )	Rendimiento (TCH)	C. Varios (US\$.ha <sup>-1</sup> )	IN+CF (US\$.ha <sup>-1</sup> )	incremento Rto (t.ha <sup>-1</sup> )	Incremento IN+CF (US\$.ha <sup>-1</sup> )	TRCV (US\$.ha <sup>-1</sup> )
COLPOSCTMEX 06-039	0	95,0	153,66	1992,40	-	-	-
	120	92,3	269,29	1935,78	-	-	-
	180	123,3	327,10	2585,93	28,3	593,52	0,10*
COLPOSCTMEX 06-271	0	82,8	153,66	1736,54	-	-	-
	120	86,5	269,29	1814,14	3,7	77,60	0,02
	180	91,2	327,10	1912,71	8,4	176,17	0,03
COLPOSCTMEX 06-474	0	101,3	153,66	2124,53	-	-	-
	120	109,1	269,29	2288,12	7,8	163,58	0,03
	180	120,6	327,10	2529,31	19,3	404,77	0,07
COLPOSCTMEX 06-2362	0	93,6	153,66	1963,04	-	-	-
	120	100,3	269,29	2103,56	6,7	140,52	0,03
	180	112,8	327,10	2365,72	19,2	402,68	0,07
COLPOS CTMEX 05-0223	0	104,3	153,66	2187,45	-	-	-
	120	126,9	269,29	2661,43	22,6	473,98	0,10*
	180	153,0	327,10	3208,82	48,7	1021,37	0,17*
ATEMEX 96-40	0	101,8	153,66	2135,02	-	-	-
	120	111,9	269,29	2346,84	10,1	211,83	0,04
	180	121,9	327,10	2556,57	20,1	421,55	0,07
RD 75 11	0	101,5	153,66	2128,73	-	-	-
	120	124,2	269,29	2604,81	22,7	476,08	0,10*
	180	133,3	327,10	2795,66	31,8	666,93	0,11*
MEX 69-290	0	70,7	153,66	1482,77	-	-	-
	120	93,2	269,29	1954,66	22,5	471,89	0,10*
	180	88,2	327,10	1849,79	17,5	367,02	0,06
MEX 68 P23	0	103,0	153,66	2160,19	-	-	-
	120	108,7	269,29	2279,73	5,7	119,55	0,02
	180	12,2	327,10	2709,67	26,2	549,49	0,09
CP 72-1210	0	85,3	153,66	1788,97	-	-	-
	120	101,1	269,29	2120,34	15,8	331,37	0,07
	180	106,2	327,10	2227,30	20,9	438,33	0,07

\* Dosis de fertilizante que superan la tasa de retorno mínima del 50% para productores de capital limitado.

\* Fertilizer doses exceeding the minimum rate of return of 50% for limited capital producers.

El índice de consumo interno de nitrógeno varió de 1,5 a 2,4 kg de N.t de tallo<sup>-1</sup> en los 10 cultivares. Los cultivares COLPOSCTMEX 05-0223, RD 75-11 y MEX 69-290, con la dosis de 120 kg.N.ha<sup>-1</sup>, generan una tasa de retorno al capital variable (TRCV) de US\$ 0,10.

Por su parte los cultivares COLPOSCTMEX 06-039, COLPOS CTMEX 05-0223, RD 75-11 y MEX 68 P23, con la dosis de 160 kg.N.ha<sup>-1</sup>, generan una TRCV > US\$ 0,09, respectivamente, corroborando la rentabilidad de la fertilización nitrogenada en edad de caña planta, bajo las condiciones agroecológicas del área de estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Boaretto, A.; Muraoka, T.; Trevelin, P. 2007. Uso eficiente de nitrógeno nos fertilizantes convencionais. *Informacoes Agronómicas. Brasil.* 120:13-14.
2. Cañeros (Unión Nacional de Cañeros A.C.). 2015. Estadísticas de la agroindustria azucarera. Disponible en: [www.caneros.org.mx](http://www.caneros.org.mx). (Consultado el 18 de junio de 2015).
3. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). 1988. La Formulación de recomendaciones a partir de datos agronómicos: Un manual metodológico de evaluación económica. Ed. Revisada. CIMMYT. México. 79 p.
4. Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2014. Servicio Meteorológico Nacional: Reporte anual 2014. México. 27 p.
5. Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2015. Servicio Meteorológico Nacional: Reporte anual 2015. México. 30 p.
6. Di Ciocco, C. A.; Sandler, R. V.; Falco, L. B.; Coviella, C. E. 2014. Actividad microbiológica de un suelo sometido a distintos usos y su relación con variables físico-químicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina.* 46(1): 73-85.
7. Dourado-Neto, D.; Powlson, D.; Bakar, R. A.; Bacchi, O. O. S.; Basanta, M. V.; Cong, P. T.; Keerthisinghe, G.; Ismaili, M.; Rahman, S. M.; Reichardt, K.; Safwat, M.S.A.; Sangakkara, R.; Timm, L. C.; Wang, J.Y.; Zagal, E.; Van Kessel, C. 2010. Multiseason recoveries of organic and inorganic nitrogen-15 in tropical cropping systems. *Soil Science Society of America Journal.* 74(1): 139-152.
8. Fortes, C.; Vitti, A. C.; Ocheuze, T. P. C.; Vitti, A. C.; Otto, R.; Junqueira, F. H. C.; Faroni, C. E. 2013. Stalk and sucrose yield in response to nitrogen fertilization of sugarcane under reduced tillage. *Pesq. agropec. Bras. Brasil.* 48(1): 88-96.
9. Franco, J. E. C.; Otto, R.; Faroni, C. E.; Vitti, A. C.; Almeida, O. E. C.; Ocheuze, T. P. C. 2011. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. *Field Crops Research.* 121(1): 29-41.
10. Junguo, L.; Liangzhi, Y.; Manouchehr, A.; Obersteiner, M.; Herrero, M.; Alexander, J.; Zehnder, B.; Yang, H. 2010. A high-resolution assessment on global nitrogen flows in cropland. *PNAS Direct Submission.* 107(17): 8035-8040.
11. Meyer, J. H.; Schumann, A. W.; Wood, R. A.; Nixon, D. J.; Van Den Berg, M. 2007. Recent advances to improve nitrogen use efficiency of sugarcane in the South African Sugar Industry. *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.* 26: 238-245.
12. NOM-021-SEMARNAT-2000. Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. *Diario Oficial,* 31 de diciembre de 2002. 85 p.
13. Palma-López, D. J.; Salgado, G. S.; Obrador, O. J. J.; Trujillo, N. A.; Lagunes, E. L. C.; Zavala, C. J.; Ruiz, B. A.; Carrera, M. M. A. 2002. Sistema integrado para recomendar dosis de fertilización en caña de azúcar (SIRDF). *Terra Latinoamericana. México.* 20(3): 347-358.
14. Pineda, R. E.; Rodríguez, C. I.; Burgos, A. J. L.; Vidal, D. M. L.; Becerra, A. E.; Acosta, H. F.; Más, M. R. 2014. La fertilización nitrogenada de la caña de azúcar en un suelo con presencia de hidromorfia. *Centro Agrícola. Cuba.* 41(3): 11-15.

15. Robinson, N.; Fletcher, A.; Whan, A.; Critchley, N. C.; Wirén, V.; Lakshmanan, P.; Schmidt, S. 2007. Sugarcane genotypes differ in internal nitrogen use efficiency. *Functional Plant Biology*. 34(12): 1122-1129.
16. Robinson, N.; Gamage, H.; Whan, A.; Vinall, K.; Fletcher, A.; Brackin, R.; Holst, J.; Lakshmanan, P.; Schmidt, S. 2009. Evidence of differences in nitrogen use efficiency in sugarcane genotypes. *Proc Aust Soc Sugar Cane Technol. Australia*. 31: 256-264.
17. Salgado, G. S.; Núñez, E. R.; Bucio, A. L. 2003a. Determinación de la dosis óptima económica de fertilización en caña de azúcar. *Terra Latinoamericana. México*. 21(2): 267-272.
18. Salgado, G. S.; Núñez, R.; Peña, J. J.; Etchevers, J. D.; Palma, J. D.; Soto, R. M. 2003b. Manejo de la fertilización en el rendimiento, calidad del jugo y actividad de invertasas en caña de azúcar. *Interciencia. Venezuela*. 28(10): 576-580.
19. Salgado, G. S.; Palma, L. D. J.; Zavala, C. J.; Lagunes, E. L. C.; Ortiz, G. C. F.; Castelán, E. M.; Guerrero, P. A.; Moreno, C. E.; Rincón, R. J. A. 2008. Sistema Integrado para Recomendar Dosis de Fertilizantes (SIRDF) en Caña de Azúcar: Ingenio Azsuremex. Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. H. Cárdenas, Tabasco. México. 101 p.
20. Salgado, G. S.; Palma-López, D. J.; Zavala-Cruz, J.; Lagunes-Espinoza, L. C.; Ortiz-García, C. F.; Castelán-Estrada, M.; Guerrero-Peña, A.; Aranda-Ibáñez, E. M.; Moreno-Cáliz, E.; Rincón-Ramírez, J. A. 2010. Lotificación del campo cañero: una metodología para iniciar la agricultura de precisión en los ingenios de México. *Interciencia. Venezuela*. 35(3): 183-190.
21. Salgado, G. S.; Palma, L. D. J.; Zavala, C. J.; Lagunes, E. L. C.; Castelán, E. M.; Ortiz, G. C. F.; Juárez, L. J. F.; Ruiz, R. O.; Armida, A. L.; Rincón, R. J. A.; Córdova, S. S. 2011. Un programa de fertilización sustentable para el Ingenio "Presidente Benito Juárez" en Tabasco, México. *Avances en Investigación Agropecuaria. México*. 15(3): 45-65.
22. Saucedo Castillo, O.; de Mello Prado, R.; Castellanos González, L.; Ely, N.; Silva Campos, C. N.; Pereira Da Silva, G.; Assis, L. C. 2015. Efecto de la fertilización fosfatada con cachaza sobre la actividad microbiana del suelo y la absorción de fósforo en caña de azúcar (*Saccharum* spp.). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina*. 47(1): 33-42.
23. Stevenson, D. W. A.; Van der Merwe, A.; Benninga, W.; Allison, J. C. S. 1992. Response of different sugarcane varieties to greater than normal applications of nitrogen. *Proc Afr Sug Technol Ass.* 66: 50-53.
24. Urquiaga, S.; Cruz, K. H. S.; Boddey, R. M. 1992. Contribution of nitrogen fixation to sugarcane: nitrogen-15 and nitrogen-balance estimates. *Soil Science Society of America*. 56: 105-114.
25. Weigel, A.; Meyer, J. H.; Moodley, S. 2010. Nitrogen responses and nitrogen use efficiency of four sugarcane varieties in Mpumalanga. *Proc S Afr Sug Technol Ass. South África*. 83: 216- 220.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Grupo MASCAÑA del Colegio de Postgraduados, a la Universidad Autónoma de Chiapas-Escuela Maya de Estudios Agropecuarios, a la Fundación Produce Tabasco, A.C., a la Asociación Local de productores de caña de azúcar CNPR del IA.

A Don Gustavo Morales Barrada por el financiamiento y el apoyo logístico otorgado a esta investigación.

## **Use of copper hydroxide in the cultivation of lisianthus seedlings (*Eustoma grandiflorum* L.) under floating system**

### **Uso de hidróxido de cobre en plantines de lisianthus (*Eustoma grandiflorum* L.) cultivados en sistema de raíces flotantes**

Lorena Alejandra Barbaro, Mónica Alejandra Karlanián, Diego Alejandro Mata

Originales: *Recepción:* 31/07/2015 - *Aceptación:* 09/03/2016

#### **ABSTRACT**

Previous experiences demonstrated the efficiency of the floating system for growing lisianthus (*Eustoma grandiflorum* L.) seedlings. Using this system, root growth usually expands through the plug cell drainage hole into the solution originating some difficulties at transplant. Pruning roots could facilitate transplant as seedlings could be taken out of the tray more easily. However, root damages at the cutting point are a possible access for pathogens. The use of  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  in the nutrient solution as a chemical pruning method was evaluated. Lisianthus seeds were sown in floating trays and placed in nutrient solutions containing 0, 12, 23, 46, 92 and 138  $\text{g L}^{-1}$   $\text{Cu}(\text{OH})_2$ . After 30, 40, 47 and 54 days, fresh and dry weights of seedlings were recorded. When seedlings reached four expanded leaves they were transplanted to soil in a greenhouse. At flowering, shoots were harvested to evaluate flower stem quality. Total root and shoot fresh and dry weights were higher for seedlings cultivated with 0.023 or higher doses of  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ . However, roots mass inside the tray cell were higher in all treatments compared to the control. The use of  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  during plug stage improved transplant size and no effect on further plant growth and development was observed.

#### **Keywords**

floating bed • *Eustoma grandiflorum* L. • chemical pruning • propagation

---

Instituto de Floricultura, CNIA-INTA - N. Repetto y Las Cabañas s/n, (1686)  
Hurlingham, Pcia. de Buenos Aires, Argentina. mata.diego@inta.gob.ar

## RESUMEN

En el sistema de almácigos flotantes el crecimiento de las raíces generalmente excede el volumen de la celda pudiendo ocasionar algunas dificultades en el trasplante. La poda mecánica de raíces podría permitir que los plantines sean extraídos de la bandeja con mayor facilidad. Sin embargo, daños en las raíces debido al corte podrían ser vías de ingreso de patógenos. Semillas de lisianthus (*Eustoma grandiflorum* L.) fueron sembradas en bandejas flotantes utilizando soluciones nutritivas con 0, 12, 23, 46, 92 y 138 mg L<sup>-1</sup> de Cu(OH)<sub>2</sub> para evaluar su uso como agente de poda química. Luego de 30, 40, 47 y 54 días, se registró el peso fresco y seco de los plantines. Posteriormente se trasplantaron a un cantero dentro de un invernáculo y en floración se cosecharon para determinar la calidad de la vara. El peso fresco y seco de los plantines fue mayor al control en los tratamientos con 23 mg L<sup>-1</sup> o mayores concentraciones de Cu(OH)<sub>2</sub>. Sin embargo, la masa de raíces dentro de la celda fue mayor en todos los tratamientos respecto del control. El uso de Cu(OH)<sub>2</sub> durante la producción de plantines mejoró el tamaño del plantín y no tuvo efecto en el crecimiento y desarrollo posterior del cultivo.

### Palabras clave

almácigo flotante • *Eustoma grandiflorum* L. • poda química • propagación

## INTRODUCTION

The floating system is a widely used technique in the tobacco transplant production that replaces the conventional ground plant beds (14). Seeds are sowed in peat based media in polystyrene plug-trays floating in a nutrient solution tank during all the transplant production period. This technology has also been successfully used in the production of several horticultural transplants such as lettuce, paprika, tomato, cabbage, cauliflower, and more recently in ornamentals like gladiolus, liatris and lisianthus among others (4, 7, 8, 12, 14, 15, 19, 20, 23). In lisianthus (*Eustoma grandiflorum* L.) seedlings of greater size and higher root development were obtained with the floating system in a shorter period of time as compared to the conventional system (4).

In general, many authors mention a reduction in transplants production costs using the floating system as the appli-

cation of mineral nutrients is easier and labor costs for watering can be eliminated. Also, bed disinfection is not needed and higher uniformity of transplants and greater survival rates can be obtained (3).

However, a negative point is that roots usually grow through the drainage hole of the tray into the nutrient solution. This causes difficulties when taking each transplant out of the tray and could also damage roots of the transplants at the moment of planting into the field (5). To avoid this problem, roots emerging from the drainage hole can be removed at the point of emergence. In a previous experiment we demonstrated that this removal does not affect the subsequent plant growth or development in lisianthus (5).

However, this practice could expose the damaged roots to the entrance of different pathogens.

The use of copper based components is a common practice to avoid the excessive growth of roots outside containers (17, 18, 22). This technique consists in painting the internal surface of containers with different  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  or  $\text{CuCO}_3$  doses (13). This pruning technique was evaluated in different woody and ornamental species (*e.g.* 1, 16) and in all cases transplants formed a better radical system with a better root distribution: more lateral roots were observed (1).

In this study we evaluated the application of different  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  concentrations in the nutrient solution tank of a floating bed system as a method to avoid root growth through the drainage hole in the production of lisianthus transplants. This hypothesis is that the presence of  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  in the nutrient solution would mimic the effects observed by painting the internal surface of containers, thus stopping root growth into the nutrient solution. The evaluation of possible negative effects of this compound on the subsequent plant growth under greenhouse cultivation was also evaluated.

## MATERIALS AND METHODS

Small nutrient solution tanks were simulated with 45 x 33 x 10 cm plastic containers. Expanded polystyrene trays of 288 cells were cut in three parts to obtain smaller trays of 22.6 x 11.7 x 6.1 cm with 96 cells each (17 cm<sup>3</sup>). All containers were placed on a bench 1m above the ground inside a plastic greenhouse. Trays were filled with a commercial growing media (Grow Mix Tabaco A1, Terrafertil S. A., Argentina) containing 70% peat moss and 30% vermiculite and perlite. Lisianthus' Pink Picotee F1 seeds (Takii & Co. LTD., Kyoto, Japan) were sown on the trays and

then placed into the containers with 12 L of reverse osmosis water (EC: 0.04 dS cm<sup>-1</sup>; pH: 6). The water in the tank was replaced by a nutrient solution of 25 mg L<sup>-1</sup> N (EC: 0.32 dS cm<sup>-1</sup>; pH 6.23) from a 20 - 20 - 20 fertilizer (Peters Professional, Scotts Company, Ohio, USA) and then N content was increased to 50 mg L<sup>-1</sup> (EC: 0.59 dS cm<sup>-1</sup>; pH 5.98) after 30 days.

In order to check that root growth outside the drainage hole was occurring in all trays, the treatments were initiated when the first root tip was visible at the tray bottom. At that moment, six  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  doses were applied at random in each tray: 0, 12, 23, 46, 92 and 138 mg L<sup>-1</sup> (7.5, 15, 30, 60, 90mg L<sup>-1</sup> Cu respectively). The addition of  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  did not change EC or pH values of the nutrient solution in any of the treatments. The experiment was replicated 3 times in a complete randomized design. Each container with a polystyrene tray comprised an experimental unit.

The experiment was carried out in October 2011 and the average temperature was 25.1°C. Each tray received an average of 300  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  during the light period (12 h).

Transplant production time was finished when 50% of transplants in each tray reached 4 expanded leaves (54 days after sowing). At that moment, fresh and dry weight of shoots and roots out of 10 randomly harvested transplants per treatment were registered. When root growth outside of the tray took place, root weight inside and outside the tray were recorded separately for each transplant. Atomic absorption spectroscopy (SpectrAA 220, Varian) was used to determine Cu content in seedlings' tissue.

Additionally, 21 transplants out of each tray were used to evaluate their subsequent growth at planting beds inside a plastic greenhouse. Transplants were

planted at 63 plants·m<sup>2</sup> in 0.9m width beds, grouped according to the Cu(OH)<sub>2</sub> treatment they received during transplant production and cultivated as single stems. Plants were daily irrigated and weekly fertilized with a commercial fertilizer 15-10-15 (Green Hakaphos, COMPO GmbH & Co. KG, Münster, Germany). At flowering, 15 plants per treatment were collected and stem length, fresh weight and number of nodes with flowers were registered. Data were analyzed with ANOVA and treatment means were compared with Tukey's test at  $p < 0.05$  (9).

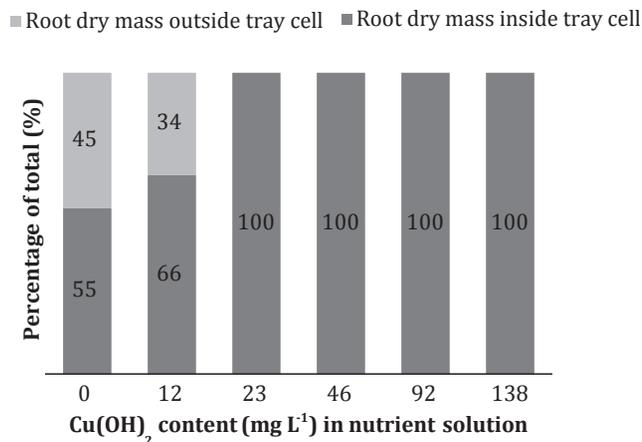
## RESULTS

The first root tips outside the drainage hole were observed 30 days after sowing. At that moment Cu(OH)<sub>2</sub> was incorporated into the nutrient solution of the container according to the treatment concentration randomly assigned to each experimental unit.

At the end of the transplant production stage, root growth into the nutrient solution was reduced with the lowest Cu(OH)<sub>2</sub> dose tested (*i.e.* 12 mg L<sup>-1</sup>) compared to the control treatment, and was totally avoided with higher concentrations (figure 1).

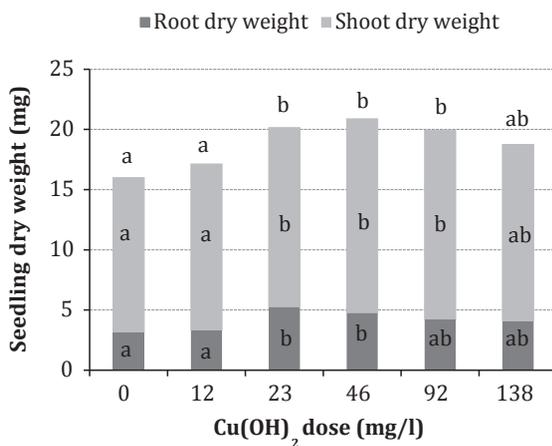
Using 23 and 46 mg L<sup>-1</sup> of Cu(OH)<sub>2</sub> increased total root dry weight of transplants compared to the control and the 12 mg L<sup>-1</sup> dose treatment, but this difference was not observed with higher Cu(OH)<sub>2</sub> doses (figure 2, page 65). Similar differences were observed among treatments when shoot dry weight or total dry weight were compared (figure 2, page 65).

At the end of the transplant stage, tissue Cu concentration in the control transplants was 7.2 mg Kg<sup>-1</sup> of total dry weight and no significant differences ( $p = 0.1417$ ) were observed with other treatments (table 1, page 65).



**Figure 1.** Fraction of roots out and inside the cell of transplants cultivated with different Cu(OH)<sub>2</sub> concentrations in the nutrient solution.

**Figura 1.** Fracción de raíces fuera y dentro de la celda de plantines cultivados con diferentes concentraciones de Cu(OH)<sub>2</sub> en la solución nutritiva.



Different letters between columns indicate significant differences by Tukey's test at  $P < 0.05$ .  
 Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas con test de Tukey ( $P < 0,05$ ).

**Figure 2.** Root and shoot dry weight of transplants cultivated in a floating system with different  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  concentrations in the nutrient solution.

**Figura 2.** Peso seco de raíces y tallo en plantines de lisianthus cultivados en sistema flotante con diferentes concentraciones de  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  en la solución nutritiva.

**Table 1.** Tissue Cu content in lisianthus transplants cultivated with different concentrations of  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  in the nutrient solution.

**Tabla 1.** Contenido de Cu en plantines de lisianthus cultivados con diferentes concentraciones de  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  en la solución nutritiva.

$\text{Cu}(\text{OH})_2$ added to the nutrient solution ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Cu in seedlings tissue ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )
0	7.2 a
12	8.3 a
23	8.2 a
46	8.3 a
92	8.2 a
138	7.7 a

The use of  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  during the transplant production period did not affect subsequent plant growth and all plants from all treatments developed normally.

At harvest, flower stem length, weight and number of nodes with flowers were similar among all treatments ( $p > 0.05$ ; table 2, page 66).

**Table 2.** Length, weight and number of nodes with flowers of flower-stems harvested from plants cultivated with different  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  doses during plug cultivation of seedlings under floating system technique.

**Tabla 2.** Largo, peso y número de nudos con flores de varas florales cosechadas de plantas cultivadas en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones de  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  durante la producción de plantines en almácigos flotantes.

$\text{Cu}(\text{OH})_2$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Stem length (cm)	Stem weight (g)	Number of nodes with flowers
0	29.4 a	7.1 a	5.8 a
12	32.4 a	8.4 a	6.0 a
23	29.9 a	7.2 a	5.8 a
46	32.8 a	8.1 a	6.2 a
92	28.2 a	6.8 a	5.1 a
138	30.4 a	7.4 a	5.4 a

## DISCUSSION

Root growth outside the drainage hole was prevented in the production of tomato transplants cultivated in floating trays by paining the cell walls with a latex formulated with 7.1%  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  (21).

In accordance to the results, this author observed that the dry weight of roots inside the cell was grater in trays treated than in those not treated with  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ . This was attributed to an increase in root branching after root tips stopped their growth when getting in contact with the Cu in the cell walls (6).

Among all  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  doses tested, the minimal effective dose to prevent root growth outside the drainage hole was 23  $\text{mg L}^{-1}$ . That minimal dose also permitted reaching the highest values of root and shoot dry weight of transplants so the use of higher doses seems to be unnecessary to control root growth of lisianthus, at least in the variety used in this experiment.

No toxicity symptoms were observed in transplant shoots of any of the treatments.

However, root tips of the control transplants were white, while those of other

treatments were slightly brown. This could be due to a toxicity effect of Cu in the first millimeters of roots that were in direct contact with of Cu in the solution causing root development inhibition, thickening and darkening (1, 2, 24).

In several ornamental species the same root-tip darkening was reported when pruning roots with Cu compounds (2, 16, 18, 24).

Other visible Cu toxicity symptoms have been reported in leaves and shoots of other species when at least 20  $\text{mg Kg}^{-1}$  dry weight in plant tissue was registered (11), so according to the values measured in this experiment, Cu content all treatments of this experiment can be considered low in order to cause damages at aerial tissue level.

The presence of copper in the control treatment was due to the Cu content of the fertilizer used (0.02% as chelated Cu as indicated by fertilizer info tag).

In all other treatments, Cu concentrations measured in tissue at the end of the experiment were similar to the control indicating a possible regulation of Cu

mobility from the solution to the plant as observed in recent reports. For example, Johnson and Singhal (2013) observed with an energy-dispersive X-ray analysis of root cell walls of *Lilium perenne* that the endodermis presented a barrier to the movement of free Cu ions.

According to our results, it could be recommended to incorporate 23 mg L<sup>-1</sup> Cu (OH)<sub>2</sub> in the production of lisianthus transplants as it was the lowest effective dose to stop the root growth into the nutrient solution.

However, the minimum effective dose should be evaluated before making any general recommendation as Cu concentration is species dependent. Arnold *et al.* (1993) reported best results when painting pot walls with added with concentrations between 25 to 50 g of

Cu(OH)<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> but Svenson and Johnston (1995) had to rise the concentration up to 100 g of Cu(OH)<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> to obtain similar results in ornamental foliage species. Similar results were observed by Wyatt (1998) in tomato plant growth of transplants produced with or without Cu impregnation in cell walls. Ruter (1994) on the other hand, did find an increase in the vegetative development of chrysanthemum plants developed in pots containing Cu, respect to plants cultivated without Cu application.

It is concluded that the use of a low Cu(OH)<sub>2</sub> concentration (*i.e.* 23 g L<sup>-1</sup>) in the nutrient solution is effective to avoid root growth outside the tray-cell and to increase total root and shoot transplant growth, facilitating transplant planting and avoiding damages in the roots that could lead to further pathogen infections.

## REFERENCES

1. Arboleda, M. E.; Dámaso, B.; Norca, M. 2002. Efecto del hidróxido de cobre sobre el crecimiento de las especies arbóreas *Pachyra insignes* y *Andira inermis* en condiciones de vivero. *Bioagro*. 14(2): 65-70.
2. Arnold, M. A.; Douglas, L. A.; Davis, W. E. 1993. Cupric hydroxide-treated containers affect growth and flowering of annual and perennial bedding plants. *J. Environ. Hort.* 11(3): 106-110.
3. Ayan, A. K.; Çalışkan, Ö.; Çirak, C. 2006. Seedling quality of flue-cured tobacco as affected by different types of peat. *Commun. Biometry Crop Sci.* 1(1): 56-62.
4. Barbaro, L. A.; Karlanian, M. A.; Morisigue, D. 2009a. Producción de plantines de lisianthus (*Eustoma grandiflorum* L.) en sistema flotante. *AgriScientia*. 26(2): 63-69.
5. Barbaro, L.; Karlanian, M.; Morisigue, D. 2009b. Efecto del corte de raíces en plántulas de lisianthus (*Eustoma grandiflorum* L.). *Actas de Resumen XI Jornadas Nacionales de Floricultura*. Misiones. Argentina. 107-108 p.
6. Bennett, A. C. 1971. Toxic effects on root growth. In: Carson EW (ed) *The plant root and its environment*. University Press of Virginia, Charlottesville, VA, USA. 675-677 p.
7. Carrasco Silva, G. A. 2004. Parte III: Cultivos comerciales. semilleros en sistema flotante. En: Urrestarazu Gavilan, M. 3<sup>o</sup> edición. *Tratado de cultivo sin suelo*. Ed. Mundi Prensa. 914: 573-586.
8. Carrasco, G.; Izquierdo, J. 2005. Almaciguera flotante para la producción de almácigos hortícolas. *Manual Técnico*. Universidad de Talca. FAO. Chile. 37 p.
9. InfoStat. 2009. InfoStat versión 2009. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
10. Johnson, A. C.; Singhal, N. 2013. Influence of Chelation on Cu Distribution and Barriers to Translocation in *Lolium perenne*. *Environ. Sci. Technol.* 47(14): 7688-7695.
11. Marschner, H. 2011. *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Academic Press. New York, NY. 3<sup>rd</sup> Edition. 645p.

12. Periera, P. R. G.; Martinezm H. E. P. 1999. Produção de mudas para o cultivo de hortaliças em solo e hidroponia. Informe agropecuário 20(200/201): 24-31.
13. Pomper, K. W.; Desmond, R. L.; Snake, C. J. 2002. Incident irradiance and cupric hydroxide container treatment effects on early growth and development of container-grown Pawpaw seedlings. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 127(1):13-19.
14. Prozono, 2003. Manual de Producción de plantas de tabaco en bandejas flotantes. Buenos Aires. 140 p.
15. Rodrigues de Souza, S.; Szilagyi Saldanha, C.; Da Rocha Fontinele, Y.; De Araújo Neto, S. E.; Ferreira Kusdra, J. 2007. Produção de mudas de alface em sistema floating sob tela de sombreamento e cobertura plástica. Revista Caatinga. 20(3): 191-195.
16. Ruter, J. M. 1994. Growth responses of four vigorous-rooted tree species in cupric hydroxide-treated containers. HortScience. 29(9): 1089.
17. Svenson, S. E.; Dlane, L. J. 1994. Root and shoot responses of ten foliage species grown in cupric hydroxide treated containers. Proc. Fla. State Hort. Soc. 107: 192-193.
18. Svenson, S. E.; Jonnston, D. L.; Coy, B. L. 1995. Shoot and root responses of eight subtropical species grown en cupric hydroxide-treates containers. HortScience. 30(2): 249-251.
19. Verdial, M. F.; Iwata, A. Y.; De Lima, M. S.; Tessarioli Neto, J. 1998. Influência do sistema "Floating" no condicionamento do mudas de pimentão (*Capsicum annum* L.). Scientia Agricola. 55: 25-28.
20. Verdial, M. F.; Iwata, A. Y.; De Lima, M. S.; Tessarioli Neto, J.; Tavares, M. 1999. Influência do sistema de "floating" no condicionamento do crescimento mudas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Revista de Agricultura. 74: 107-115.
21. Wyatt, J. E. 1998. Tomato transplant production using the float system and cupric hydroxide. HortTechnology. 8(3): 366-369.
22. Yruela, I. 2005. Copper in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology. 17(1): 145-156.
23. Zanin, G.; Sambo, P.; Gianquinto, G.; Pimpini, F. 2003. First attempt to force gladiolus and liatris in a floating system. VI International Symposium on protected cultivation in mild winter climate: product and process innovation. Italia. ISHS Acta Horticulturae. 614: 227-234.
24. Zheng, Y.; Wang, L.; Dixon, M. A. 2004. Response to copper toxicity for three ornamental crops in solution culture. Hortscience. 39(5): 1116-1120.

## **Efecto de la fertilización nitrogenada y la edad del rebrote sobre el valor nutritivo de *Brachiaria brizantha* cv. "Marandú"**

### **Efect of age regrowth and nitrogen fertilization on the nutritive value of *Brachiaria brizantha* cv. "Marandú"**

Luis Gándara <sup>1</sup>, Celina I. Borrajo <sup>2</sup>, Juan A. Fernández <sup>3</sup>, M. Mercedes Pereira <sup>1</sup>

Originales: Recepción: 20/02/2015 - Aceptación: 08/08/2016

#### **RESUMEN**

Se evaluó en *Brachiaria brizantha* cv Marandú, el valor nutritivo en función de la edad del rebrote (28, 56, 84 y 112 días) y fertilización (F1, F2, F3, F4 y F5). Se determinó proteína bruta (PB), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS). El contenido de PB, mostró interacción entre edad de rebrote y fertilización. Los valores promedio por edad fueron de 46; 48; 60; 71; y 77 g PB Kg MS<sup>-1</sup> para F1, F2, F3, F4 y F5 respectivamente. La fertilización nitrogenada permitió incrementar la proporción de PB. Sobre FDN hubo una respuesta positiva de la fertilización (627 a 645 g FDN Kg MS<sup>-1</sup> para F1 y F5) y de la edad (567 a 683 g Kg MS<sup>-1</sup> de los 28 a los 112 días) y sobre FDA hubo diferencias significativas en función de la edad, (con valores de 278 a 399 g FDA Kg MS<sup>-1</sup> a los 28 y 112 días respectivamente). La DIVMS presentó diferencias significativas en función de la edad de rebrote variando de 603 a 370 g Kg MS<sup>-1</sup> desde los 28 días a 112 días. En los parámetros analizados la edad de rebrote fue un factor determinante en el valor nutritivo.

#### **Palabras clave**

valor nutritivo • edad de rebrote • fertilización • *Brachiaria brizantha* cv. Marandú

- 
- 1 Grupo de Producción Animal Subtropical. Estación Agropecuaria Corrientes Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Ruta Nacional N° 12 km 1008 (3400). Corrientes, Argentina. [gandara.luis@inta.gob.ar](mailto:gandara.luis@inta.gob.ar)
  - 2 Grupo de Producción Vegetal. Estación Agropecuaria Mercedes. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Av Pujol al este s/n (3470). Mercedes. Corrientes, Argentina.
  - 3 Cátedra de Nutrición Animal. Facultad de Ciencias Agrarias. UNNE. Sargento Cabral 2131 (3400). Corrientes. Argentina.

## ABSTRACT

In *Brachiaria brizantha* cv. Marandú, it was evaluated the nutritional value. Nutritional value was considered: crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) and *in vitro* digestibility of dry matter (IVDDM). The variables were evaluated for age of regrowth (28, 56, 84 and 112 days) and fertilization (F0, F1, F2, F3 and F4). We determined the nutritional value. CP content showed interaction between age and fertilization. Nitrogen fertilization can increase the proportion of PB. The average values of regrowth age were 46, 48, 60, 71, and 77 g CP kg DM<sup>-1</sup> to F1, F2, F3, F4 and F5 respectively. It was a positive answer to fertilization (627-645 g NDF kg DM<sup>-1</sup> to F1 and F4) and age (567-683 g kg DM<sup>-1</sup> from 28 to 112 days). In turn, fertilization had no effect on the ADF and if there was a positive response from the age of regrowth, with average values of 278 to 399 g kg DM<sup>-1</sup> ADF at 28 and 112 days respectively. The IVDDM was affected by the age ranging from 603 to 370 g kg DM<sup>-1</sup> from 28 days to 112 days. Age regrowth is the most important factor in the nutritional value.

### Keywords

nutritional value • age of regrowth • fertilization • *Brachiaria brizantha* cv. Marandú

## INTRODUCCIÓN

La base de la alimentación de la ganadería en la provincia de Corrientes son los pastizales, siendo la producción animal de regular a baja, comparada con los niveles potenciales del ambiente, esto se debe a las características de producción y calidad del recurso forrajero (6).

Las gramíneas estivales forrajeras introducidas permiten incrementar la productividad secundaria de los pastizales porque suministran mayor cantidad y calidad de forraje por unidad de área y estos dos factores permitirían aumentar la carga y la producción por hectárea (18). Estas especies forrajeras, en su mayoría originarias del África, si bien se establecen en suelos de menor fertilidad presentan limitaciones en el crecimiento, cuando se registran restricciones de macronutrientes en el suelo, tales como fósforo, nitrógeno y potasio.

De la misma manera que los pastizales, estas especies forrajeras se caracterizan

por el rápido crecimiento principalmente primavero-estival, para disminuir la acumulación de biomasa desde mediados del otoño hasta fines del invierno dependiendo de factores como temperatura y precipitaciones.

En los sistemas de producción pecuarios, la escasa producción de forraje durante el invierno, genera un déficit que impiden sostener en el tiempo la productividad del sistema. Esta limitante se puede superar mediante la disminución de la carga animal o suplementando en las épocas críticas por la escasa oferta forrajera.

El rápido crecimiento de los pastizales y especies forrajeras introducidas, conlleva a alcanzar el estado de madurez muy rápidamente, acarreado pérdidas de calidad y consecuentemente la eficiencia en el uso del pasto por el animal.

En gramíneas, las acciones tendientes a mejorar el contenido de proteína bruta (PB) y disminuir los valores de

fibra detergente neutro (FDN) del forraje incrementan el valor nutritivo y están altamente correlacionados con el consumo y la ganancia de peso (12, 3).

El aumento en la utilización de *Brachiaria brizantha* en la provincia de Corrientes generó suficientes trabajos en lo que hace al establecimiento y utilización, no existiendo suficiente información en lo que se refiere al valor nutritivo en sus diferentes etapas de desarrollo.

### Objetivo general

Evaluar el valor nutritivo de *Brachiaria brizantha* con diferentes niveles de fertilización en distintas edades de rebrote.

### Objetivos específicos

Determinar el efecto de diferentes niveles de Nitrógeno sobre el valor nutritivo de *Brachiaria brizantha*.

Determinar el efecto de la edad de rebrote sobre el valor nutritivo de *Brachiaria brizantha*.

Evaluar sobre el valor nutritivo las interacciones entre la edad de rebrote y fertilización nitrogenada.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) de Corrientes, Argentina perteneciente al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Sus coordenadas geográficas son de 27°39' de latitud sur y 58°46' de longitud oeste del meridiano de Greenwich y su altitud respecto al nivel del mar 56 metros.

El sitio experimental se encuentra en la sub-región natural denominada Albardón y Planicie Sub-cóncava del río Paraná y Afluentes de la gran región Occidental (5), donde el clima de la región norte de

Corrientes fue clasificado como subtropical húmedo, sin estación seca (14).

Los suelos son de tipo *Argiudol acuico*, franco de textura fina mixta, correspondiente a la serie Treviño, el mismo se ubica en un relieve normal, media loma alta a media loma, con pendientes de 1 a 1,5%. Son suelos moderadamente fértiles, con valores intermedios en bases de cambio, especialmente en el horizonte Bt, y de materia orgánica en el epipedón, pero muy pobres en fósforo. El uso actual es agrícola, forestal y ganadero extensivo. El índice de productividad es de 50 y la capacidad de uso es IIIe (5).

El ensayo fue sembrado el 29 de octubre de 2009, de forma manual, en líneas distanciadas a 0,30 m y densidad de siembra equivalente a 8,5 Kg de semilla pura ha<sup>-1</sup>. La fertilización de base se realizó en el momento de la siembra en todas las parcelas manteniendo un testigo absoluto sin fertilizar. Se aplicó urea (46-0-0), fosfato diamónico (DAP) (18-46-0) y cloruro de potasio (ClK) (0-0-50).

La aplicación de base fueron 120 Kg de DAP ha<sup>-1</sup> y 70 Kg ClK ha<sup>-1</sup> en forma manual a chorrillo en el lineo.

La urea se aplicó en forma manual posteriormente al corte de emparejamiento, las dosis establecidas fueron fraccionadas en dos veces (½ de dosis a los 5 días post corte y la otra ½ a los 10 días post corte). Se empleó tres niveles de N y los tratamientos de fertilización se combinaron de la siguiente forma:

F<sub>1</sub>: testigo (sin fertilizantes)

F<sub>2</sub>: N<sub>21,6</sub> - P<sub>55,2</sub> - K<sub>35</sub>

F<sub>3</sub>: N<sub>71,6</sub> - P<sub>55,2</sub> - K<sub>35</sub>

F<sub>4</sub>: N<sub>121,6</sub> - P<sub>55,2</sub> - K<sub>35</sub>

F<sub>5</sub>: N<sub>171,6</sub> - P<sub>55,2</sub> - K<sub>35</sub>

Se evaluó cuatro edades de rebrote (28, 56, 84 y 112 días) y cinco niveles de fertilización. Se utilizó un diseño en

bloques completos al azar, con arreglo en parcelas divididas con tres repeticiones, donde la parcela mayor correspondió a los tratamientos de fertilización y la parcela menor a las diferentes edades de rebrote (4 sub-parcelas de 2 x 4 m por parcela).

La unidad experimental tuvo un tamaño de 4 m x 8 m (32 m<sup>2</sup>).

Una vez trazadas las parcelas en campo, se asignó, en forma aleatoria, los tratamientos de fertilización a las parcelas principales, y las edades de rebrote a las sub-parcelas.

Los cortes de evaluación se realizaron, luego del corte de emparejamiento que se hizo a los 75 días de emergidas las plántulas. El emparejamiento se realizó cortando las plantas a una altura del suelo de 10-12 cm con una segadora Marca: Valpadana VMC.

Se cortó en el centro de cada parcela, dos cuadros de 0,25 m<sup>2</sup> con tijera a una altura de 10 cm del suelo. Todo el material cortado de cada aro se recolectó y se secó en estufa para luego ser procesado y analizado en el laboratorio de Física y Química de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Nordeste.

Se evaluó parámetros relacionados con el valor nutritivo de la biomasa producida en pie en función de la edad del rebrote y los tratamientos de fertilización. Para la determinación de la proteína cruda se siguió el procedimiento de Kjeldahl, descrito en el método de la AOAC (2000), utilizando una unidad de digestión y una de destilación Kjeldahl. (1); fibra detergente ácido (FDA); fibra detergente neutro (FDN) (7); digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) (19).

La composición química del forraje se realizó en el laboratorio de Física y Química de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNNE.

Las variables evaluadas fueron:

- Contenido de PB (g Kg MS<sup>-1</sup>)
- Contenido de FDA (g Kg MS<sup>-1</sup>)
- Contenido de FDN (g Kg MS<sup>-1</sup>)
- DIVMS (g Kg de MS<sup>-1</sup>)
- Kg MS Digestible ha<sup>-1</sup>

Los resultados se evaluaron mediante el análisis de variancia, y las diferencias entre medias se compararon con el test de Duncan ( $\alpha < 0,05$ ), con el paquete estadístico (9).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

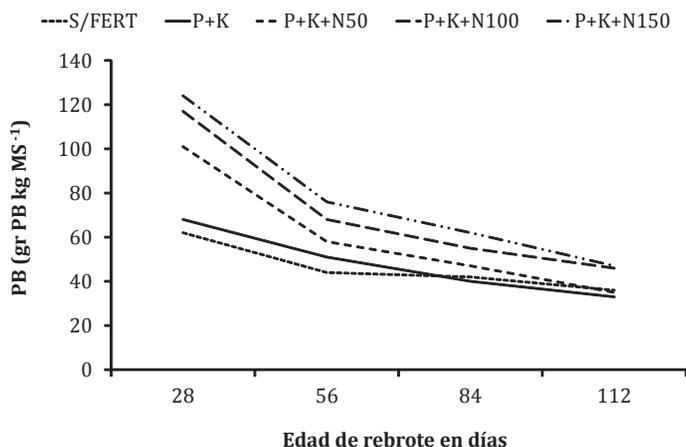
### Proteína (PB)

El contenido de PB presentó respuestas tanto a la fertilización, como a la edad de rebrote. El análisis de variancia para el contenido de PB detectó interacción entre edad de rebrote por fertilización.

La comparación de medias de la interacción entre la edad del rebrote y los tratamientos de fertilización mostró una disminución del contenido de la PB (g PB.kg MS<sup>-1</sup>) en función de la edad de rebrote, sin embargo esa disminución, fue distinta en los tratamientos de fertilización con urea (figura 1, pág. 73).

La interacción se debe a que en un primer momento con el corte a los 28 días, la PB tuvo diferencias marcadas entre los tratamientos fertilizados c/urea y s/urea, mientras que con el avance de la edad de rebrote (corte 56, 84 y 112 días) la diferencia entre tratamientos de fertilización en el contenido de PB fue cada vez menor.

Al avanzar los días de rebrote la acumulación de biomasa se incrementa, aún cuando el suministro de N en el suelo es elevado, la concentración del mismo en las plantas disminuye a medida que estas crecen (15). Esto indica que a medida que el cultivo crece, el N se acumula a una tasa progresivamente menor que el carbono, siguiendo un patrón similar para un amplio rango de especies (11).



**Figura 1.** *Brachiaria brizantha* cv Marandú. Contenido de PB en función de la edad de rebrote (días) y tratamientos de fertilización.

**Figura 1.** *Brachiaria brizantha*. Crude protein content depending on the age of regrowth (days) and fertilization treatments.

En la primera edad de rebrote, los valores máximos y mínimos fueron 124 y 62 g PB Kg MS<sup>-1</sup> para F5 y F1 respectivamente y en la última edad rebrote, los máximos y mínimos fueron 44 y 33 g PB Kg MS<sup>-1</sup> para F5 y F2 respectivamente.

Es importante destacar la velocidad de disminución de la PB, para lograr un manejo adecuado que se ajuste a la eficiencia de utilización por parte del animal.

El análisis de la interacción de los valores de PB en función de la edad de rebrote y tratamientos de fertilización; detectó que hasta los 84 días los tratamientos con/N presentaron diferencias significativas sobre el tratamiento testigo; y el tratamiento F3 y F4 difirieron del tratamiento F1 y F2 en todas las fechas de muestreo.

En los siguientes cortes (84 y 112 días de rebrote) también hubo diferencias significativas, pero los valores de PB estuvieron por debajo del mínimo necesario (70 g PB Kg MS<sup>-1</sup>) que deben

tener los forrajes para ser utilizado eficientemente por la microflora ruminal de un bovino (20).

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo se puede observar en la figura 1 que en los tratamientos con el agregado de urea en el corte de 28 días y solo el tratamiento de mayor aplicación de urea en el corte de 56 días, fueron superiores al mínimo necesario citado.

Si se toma en cuenta el incremento en edad de rebrote de los pastos tropicales, resulta que el contenido de proteína se reduce al aumentar la materia seca. Originalmente, la dilución de la proteína (N x 6,25) fue planteada como tal por investigadores del área de fisiología vegetal, quienes postularon que para alcanzar una máxima tasa de crecimiento del cultivo, debían suministrarse las dosis óptimas de fertilizante nitrogenado, y así podrían alcanzar dicha tasa de crecimiento (8, 10). A este nivel adecuado de nitrógeno

se le denominó "Contenido de Nitrógeno Crítico" y se definió como el mínimo contenido de nitrógeno necesario para alcanzar una máxima tasa de crecimiento en la planta (8). A su vez esta concentración de N crítica declina en función de la madurez de los tejidos, debido principalmente al incremento en la proporción de pared celular y la correspondiente disminución de citoplasma, en el cual el N es un constituyente esencial de proteínas, ácidos nucleicos y cloroplastos (22).

Los resultados de este ensayo muestran cómo el avance en la edad de rebrote influye negativamente en el contenido de PB.

#### **Fibra Detergente Neutro (FDN)**

Para FDN, la edad de rebrote resultó como principal factor de variación.

El análisis de la varianza para FDN mostró un buen ajuste, con ausencia de interacción entre la edad de rebrote por fertilización. A su vez, hubo efectos significativos de la edad de rebrote y de la fertilización sobre el contenido de FDN.

Si se analiza la FDN en función de la edad de rebrote (promedios tratamientos de fertilización), se obtuvo un aumento del contenido de FDN a mayor edad de rebrote, resultando a los 28 días un valor 567 g FDN Kg MS<sup>-1</sup> y 683 g FDN Kg MS<sup>-1</sup> a los 112 días.

Al igual que en la PB la mayor variación del contenido de FDN en *Brachiaria brizantha* ocurrió entre los 28 a 56 días de rebrote (567 y 643 g FDN Kg MS<sup>-1</sup>) y como una hoja adulta no crece, por lo tanto no deposita MS ni fibra (13), el aumento del contenido de FDN puede ocurrir solamente por exportación de compuestos solubles.

El contenido de FDN es un parámetro importante que define la calidad del forraje, así como un factor que limita la capacidad ingestiva por los animales.

El FDN representa la fracción de la química del forraje que se correlaciona más estrechamente con el consumo voluntario de los animales, y valores superiores a 550 a 600 g FDN Kg MS<sup>-1</sup> se correlacionan de manera negativa (20).

En el presente ensayo los valores de FDN estuvieron dentro del rango óptimo entre 28 y 56 días de rebrote.

En los tratamientos de fertilización (promedios edades de rebrote), se encontró diferencias significativas entre tratamientos, con valores de 627 g FDN Kg MS<sup>-1</sup> en el tratamiento F1 y de 645 g FDN Kg MS<sup>-1</sup> en F5, los valores de los demás tratamientos se encuentran entre estos. Otras investigaciones (4, 17), mostraron que el aumento de la fertilización nitrogenada tuvo poco o ningún efecto en el contenido de FDN.

#### **Fibra Detergente Ácido (FDA)**

Para FDA el análisis de la varianza de los resultados indican ausencia de interacción entre la edad de rebrote por fertilización, siendo la edad de rebrote significativa; mientras que la fertilización fue no significativa.

La proporción de FDA (promedio tratamientos de fertilización) aumentó entre las diferentes edades de rebrote, pasando de 278 a 399 g FDA Kg MS<sup>-1</sup> desde los 28 días a los 112 días. Esta variación en el contenido de FDA no fue uniforme entre las edades, siendo entre los 28 y 56 días cuando se generó el mayor incremento, este aumentó a una tasa de 2,7 g FDA Kg MS día<sup>-1</sup> y entre los 56-84 y 84-112 aumentó a una tasa promedio de 0,8 g FDA Kg MS día<sup>-1</sup>.

El aumento en la edad de rebrote determina el envejecimiento de la planta forrajera provocando un aumento de la pared celular, con una disminución en el contenido celular y una creciente lignificación de la pared celular (21).

La concentración de FDA se relacionó positivamente con el rendimiento de MS. El contenido de FDA es un factor importante para evaluar la digestibilidad de un alimento; en la medida que aumentan los tenores de FDA, el forraje disminuye la digestibilidad de MS (2).

La ausencia de diferencias debidas a la fertilización también fueron observadas por otros investigadores, donde indicaron que la aplicación de N tiene un efecto mínimo sobre las concentraciones de FDA de gramíneas como pasto bermuda o pasturas de estación cálida (4, 17).

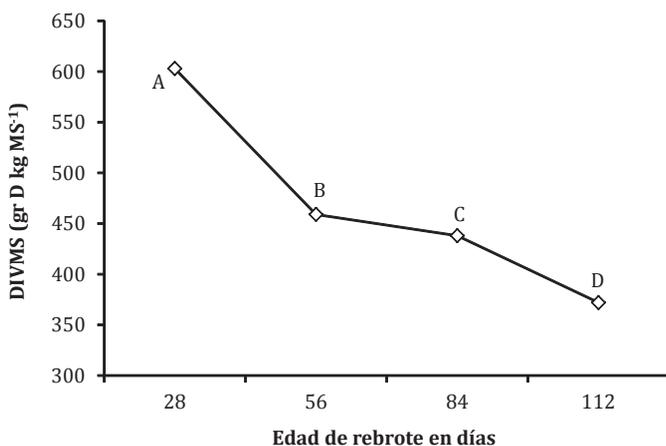
### Digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca (DIVMS)

Los resultados del análisis de la varianza para DIVMS mostraron un buen

ajuste y ausencia de interacción entre la edad de rebrote por fertilización; hubo diferencias significativas para la edad de rebrote, sin embargo las diferencias para los tratamientos de fertilización no fueron significativas.

Los resultados del análisis de la digestibilidad en función de la edad de rebrote (figura 2), muestran cómo el contenido de MS digerible disminuyó significativamente con la edad de rebrote.

Los resultados de mayor digestibilidad (promedio de los tratamientos de fertilización) se obtuvo a los 28 días de rebrote, con un contenido de 603 g MS digerible Kg MS<sup>-1</sup>, luego esta disminuyó considerablemente a 372 g MS digerible Kg MS<sup>-1</sup> en la última edad de rebrote (112 días).



Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (p: 5% Test de Duncan).  
Different letters indicate significant differences between treatments (p: 5% Duncan test).

**Figura 2.** DIVMS de *Brachiaria brizantha* en función de la edad de rebrote (promedio tratamientos de fertilización).

**Figura 2.** *Brachiaria brizantha*. DIVDM content depending on the age of regrowth (days). Average fertilization treatments.

La inclinación de la línea entre 28-56, 56-84 y 84-112 días de rebrote, generó diferentes tasas de disminución de MS digerible, es así que entre los 28 y 56 días de rebrote, la pastura disminuyó su digestibilidad a razón de  $4,1 \text{ g Kg MS}^{-1} \text{ día}^{-1}$ , entre los 56 y 84 días disminuyó a razón de  $1,5 \text{ g Kg MS}^{-1} \text{ día}^{-1}$  y entre los 84 y 112 días la disminución de la digestibilidad fue de  $2,7 \text{ g Kg MS}^{-1} \text{ día}^{-1}$ . Esta variación se correlaciona negativamente con el incremento de FDA observado en este ensayo y la causa es el desarrollo de la pastura y el envejecimiento de los tejidos como se mencionó.

Respecto del efecto de la fertilización sobre la DIVMS, no se encontró efectos significativos sobre los resultados y en la bibliografía se encuentran cambios positivos o negativos e incluso ausencia de efecto. Sin embargo, Van Soest (1994), menciona que en promedio la fertilización con N reduce levemente la digestibilidad de los forrajes.

Desde el aprovechamiento por parte del animal, es importante conocer cómo varía esa disminución de DIVMS con la Acumulación de Materia Seca (AMS), ya que durante el desenvolvimiento del desarrollo la planta presenta una amplia relación con la composición química y calidad del forraje.

Otros autores consideran que durante el crecimiento de las forrajeras ocurren aumentos en los tenores de carbohidratos estructurales y lignina (16), a su vez una invariable reducción en la proporción de la DIVMS; siendo también alteradas las estructuras de las plantas como la elevada relación hoja:tallo, y que las plantas más viejas presentan mayores proporciones de tallos que de hojas, tendiendo por tanto a una reducción en su contenido de nutrientes potencialmente digeribles con la maduración.

Es importante conocer la variación del valor nutritivo en función de la edad de rebrote y tratamiento de fertilización, con la finalidad de obtener una elevada producción de carne ya sea bajo pastoreo o mediante la utilización de henos.

La eficiente utilización del forraje dependerá en gran medida del momento de inicio de pastoreo, momento de corte para la confección del heno y de la carga animal.

Por otro lado, el momento de inicio de pastoreo determinará la eficiencia de conversión (kg de carne por kg de MS consumida) y a su vez disponibilidad de pasto al inicio, que junto con la tasa de crecimiento determinarán la carga posible.

## CONCLUSIONES

La fertilización con nitrógeno incrementó el contenido de PB y esta disminuyó con la edad de rebrote.

La edad de rebrote, es el principal factor que afecta el valor nutritivo ya que al aumentar la edad de rebrote aumentó el contenido de FDN y de FDA; y disminuyó la DIVMS y la PB.

El conocimiento de los efectos de la edad de rebrote y fertilización sobre el valor nutritivo, permiten obtener forrajes de buen valor nutritivo para la producción animal.

## BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC International. 2000. "Official Methods of Analysis". 17<sup>ª</sup>ed. Gaithersburg, USA.
2. Branco, A. F. 2006. Caracterização de alimentos para ruminantes. Disponible en: <http://www.potasa.com.br>. Acceso: 10 febrero 2007.
3. Brown, W. F. 1988. Maturity and ammoniation effects on the feeding value of tropical grass hay. *J. Animal Science*. 66: 2224.
4. Cuomo, G. J.; Anderson, B. E. 1996. Nitrogen fertilization and burning effects on rumen protein degradation and nutritive value of native grasses. *Agon. J.* 88: 439-442.
5. Escobar, H. E.; Ligier D. H.; Melgar R.; Matteio, H.; Vallejos, O. 1996. Mapa de Suelos de la Provincia de Corrientes. 1: 500.000.
6. Gándara, F.; Arias Mañotti, A. 1999. Situación actual de la ganadería. *Ganadería del NEA. INTA, Corrientes*. p. 31-39.
7. Goering, N. K.; Van Soest, P. J. 1970. Forage fiber analysis: apparatus, reagents, procedures and some application. Washington. (USDA. Agriculture Handbook). 20 p.
8. Greenwood, D. J.; Lemaire, G.; Gosse, G.; Cruz, P.; Draycott, A.; Neeteson, J. J. 1990. Decline in percentage N of C3 and C4 crops with increasing plant mass. *Annals Bot.* 66: 425-436.
9. INFOSTAT. 2008. Infostat versión 1.1. Gupo Infostat. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
10. Lemaire, G.; Salette, J. 1984. Relation entre dynamique de croissance et dynamique de prélèvement d'azote pour un peuplement de gaminées fourragères. 1. Etude de l'effet du milieu. *Agronomie*. 4: 423-430.
11. Lemaire, G.; Gastal F. 1997. N uptake and distribution in plant canopies. G. Lemaire (ed.). *Diagnosis of the nitrogen status in crops INRA, Station d'Écophysiologie de plants fourragères*. 1: 3-41.
12. Mason, V. C.; Cook, J. E.; Cooper, E. M.; Hartley, R. D. 1989. Oven and stack ammoniation of grass hays. 1: Changes in chemical composition in relation to digestibility *in vitro* and cell-wall degradability. *Anim. Feed Sci Technol.* 24: 299.
13. Maurice, I.; Gastal, F.; Durand, J. L. 1997. Generation of form and associated mass deposition during leaf development in grasses: a kinematic approach for Non- steady growth. *Annals of Botany*. 80: 673-683.
14. Papadakis, J. 1974. Ecología, posibilidades Agropecuarias de las Provincias Argentinas. Fascículo 3. Enciclopedia Arg. De Agric. y Jardinería. Ed. ACME. 86 p.
15. Reeves, M.; Fulkerson, W. J.; Kellaway, R. C. 1996. Forage quality of kikuyu (*Pennisetum clandestinum*): the effect of time of defoliation and nitrogen fertilizer application and in comparison with perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Aust. J. Agric. Res.* 47: 1349-1359.
16. Reis, R. A.; Rodrigues, L. R. A. 1993. Valor nutritivo de plantas forrageiras. Jaboticabal: [s.n.]. 26 p.
17. Rogers, J. R.; Harvey, R. W.; Poore, M. H.; Mueller, J. P.; Barker, J. C. 1996. Application of nitrogen from swine lagoon effluent to Bermuda grass pastures: seasonal changes in forage nitrogenous constituents and effects of energy and escape protein supplementation on beef cattle performance. *J. Anim. Sci.* 74:1126-1133.
18. Royo Pallarés, O.; Pizzio, R. 1998. Producción animal sobre pasturas en la zona campos de Argentina. 17° Reuniao Grupo Campos. Santa Catarina, Brasil. p. 13-19.
19. Tilley, J. M. A.; Terry, R. A. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Brit. Grass l.*, 18: 104-11.
20. Van Soest, P. J. 1965. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: voluntary intake relation to chemical composition and digestibility. *Journal of Animal Science*, Champaign. 24(3): 834-844.
21. Van Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2° ed. Cornell University Press, Ithaca, NY. 476 p.
22. Whitehead, D. C. 1995. Grassland nitrogen. CAB International, Wallingford, UK. 397 p.

## **Evolución de la salinidad de los suelos regadíos del río Tunuyán Inferior (Mendoza - Argentina)**

### **Salinity evolution in irrigated soils in the Lower Tunuyán River basin (Mendoza - Argentina)**

Fabián Tozzi <sup>1</sup>, Adriana Mariani <sup>2</sup>, Rosana Vallone <sup>1,3</sup>, José Morábito <sup>2,3</sup>

Originales: *Recepción*: 31/05/2016 - *Aceptación*: 07/12/2016

#### **RESUMEN**

La salinidad del suelo y del agua de riego afecta la producción de los cultivos impactando en la economía de los oasis regadíos. Se realizó este estudio sobre los suelos cultivados en el área de influencia del río Tunuyán Inferior, con el objeto de determinar la evolución de la salinidad edáfica, a partir de mediciones de conductividad eléctrica del extracto de saturación del suelo (CEes). El estudio abarcó los períodos 2001-2002 y 2007-2009 con determinaciones a dos profundidades (0 - 0,5 m y 0,5 - 1 m). Se trazaron curvas de isosalinidad de suelo y se analizaron los factores que inciden en la CEes: niveles freáticos, obras de impermeabilización de canales, lluvia, evapotranspiración y volúmenes derivados para riego. Los resultados muestran que existe diferencia significativa de la variación temporal de la CEes, para ambas profundidades analizadas, reflejando una disminución de la variable en el tiempo. A partir de curvas de isosalinidad se determinó para el estrato superficial que el 49% del área (2002) presentaba suelos moderadamente salinos, mientras que en el año 2009, el 60% de la superficie presentó una reducción de la salinidad. Ello se atribuye a la disminución de los niveles freáticos, producto de las obras de impermeabilización.

#### **Palabras clave**

mapas de isosalinidad de suelos • dinámica salina edáfica

- 
- 1 Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA Junín)
  - 2 Instituto Nacional del Agua - Centro Regional Andino (INA-CRA). Belgrano Oeste 210, CP: 5500, Mendoza - Argentina. jamorabito53@yahoo.com.ar
  - 3 Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Alte. Brown 500. Chacras de Coria. Mendoza. Argentina. M5528AHB.

## ABSTRACT

Soil salinity and irrigation water affect crop production and the economy of irrigated oases. This study was carried out on cultivated soils in the command area of the Lower Tunuyán River in order to determine the evolution of soil salinity by measuring the electrical conductivity of the soil saturation extract (CEEs for its acronym in Spanish). The study comprised periods 2001-2002 and 2007-2009 and determinations were made at two different depths (0-0.5 m and 0.5-1 m). Iso-salinity curves were plotted and the factors affecting CEEs were analyzed: water table levels, irrigation canal lining, rainfall, evapotranspiration and volumes derived for irrigation. Results showed that there is a significant difference in the temporal variation of the CEEs at both depths, with a decreasing trend through time. Iso-salinity curves made it possible to determine that in 49% of the superficial strata (2002) soils were moderately saline, while in 2009, 60% of the area showed that canal lining led to a reduction in salinity levels due to decreasing water tables.

### Keywords

soil iso-salinity maps • soil-salinity dynamics

## INTRODUCCIÓN

Los problemas de salinidad o de acumulación de sodio en exceso ocasionan un deterioro acelerado en la calidad de los suelos y una disminución del potencial productivo provocando pérdidas importantes en la producción agrícola de la zona (1).

En general, la presencia de sales solubles pueden afectar de tres formas el crecimiento de las plantas: i) efectos de toxicidad por iones específicos (por ejemplo, cloruros, sodio, boratos); ii) desbalances iónicos e interacciones en la absorción de nutrientes y iii) disminución del potencial hídrico del suelo, restringiendo la absorción de agua por las raíces de las plantas (22).

Las distintas especies vegetales difieren grandemente en su respuesta al crecimiento en ambientes salinos y a los mecanismos fisiológicos involucrados, esto ha sido ampliamente revisado y compendiado en la literatura mundial (13, 14, 15, 20, 28).

Otros autores han dado pautas sobre elección y manejo de los cultivos bajo condiciones salinas Loomis (1983), Abrol *et al.* (1977); Maas (1993), como también estrategias de utilización de plantas resistentes a la salinidad y producción de nuevos genotipos tolerantes (2, 36, 38).

En el suelo, el exceso de sodio en el complejo de intercambio conduce a su dispersión, lo que conlleva a problemas de infiltración del agua, aireación y penetración de raíces (4, 15) lo cual implica labores de recuperación y manejos especiales (1, 7, 17, 36).

FAO and ITPS (11) expresa que en Argentina más de 70 millones de hectáreas se encuentran afectadas por suelos salinos, y al menos 600.000 hectáreas de suelos irrigados bajo climas áridos y semiáridos se ven afectados por salinización antropogénica, a menudo relacionada con la gestión de drenaje inadecuado y/o mala calidad del agua.

Según FAO (2015), en Argentina existen dos procesos mayoritarios de afectación por sales y/o sodio, resultantes de la aplicación de agua de riego: 1) el que se verifica en las regiones áridas y semiáridas del país, estrechamente vinculado con láminas importantes de riego, elevación del plano freático, traslado de sales disueltas hacia el perfil del suelo y depósito de las mismas en superficie y 2) el relacionado con el riego complementario presurizado con agua bicarbonatada sódica que ocurre en la región pampeana, cuyo efecto inmediato es el deterioro de la matriz del suelo por dispersión, disminución de la infiltración, intercambio gaseoso en el perfil y generación de toxicidad en los cultivos.

El estudio menciona que Argentina cuenta con 412.338 ha afectadas con problemas de salinidad, el 41,3% de la superficie, está vinculada con procesos de sodificación y el 58,7% restante a procesos exclusivos de salinización o sinérgicos de salinización y sodificación. Menciona además que el drenaje -en sus versiones a cielo abierto y entubado- la adecuación del tiempo de avance del riego gravitacional, las enmiendas y el ajuste de láminas en riego presurizado, aparecen como herramientas para recuperar el 20% de la superficie comprometida. Recomienda, por último, promover la recuperación de las tierras afectadas por problemas de salinidad e incentivar el mejoramiento de los indicadores de desempeño en el uso del riego, tanto para fuentes superficiales como subterráneas, particularmente en aquellos sistemas afectados por la salinidad.

FAO -en el documento arriba citado- menciona que Mendoza posee un 26,4% de suelos efectivamente regados con algún grado de afectación, particularmente en el Oasis Norte, superficie que se

intensifica en ciertos lugares como la zona central, centro norte y norte de la cuenca del río Mendoza y con valores inferiores en el río Tunuyán. También existe afectación en los suelos del área central, en el límite este de la superficie regada, lo que es coincidente con el uso de agua subsuperficial. El proceso ha mantenido cierta estabilidad en las cuencas de los ríos Tunuyán y Mendoza durante los recientes ciclos hidrológicos, con una profundidad del plano freático entre 1 y 2 m, una CE del agua de riego de 0,9 a 1,35 dS.m<sup>-1</sup> y del agua de drenaje de 3 a 3,5 dS.m<sup>-1</sup>, con un RAS de 2,45.

Vallone *et al.* (2007), relevaron la salinidad de los suelos a escala 1:200.000 en todos los oasis regadíos de la provincia de Mendoza y determinaron que en la cuenca del (RTI) el 25% de la superficie presentaría valores de conductividad eléctrica del extracto de saturación (CEes) mayores a 4 dS m<sup>-1</sup>.

Importantes estudios realizados en relación con la estimación de impacto del cambio climático sobre los Andes centrales sudamericanos -donde se encuentra la provincia de Mendoza- predicen escenarios de escasez del recurso hídrico: reducción promedio del 10% (con valores extremos del 7 al 13%) en los caudales de los ríos provinciales para los años 2021 al 2030 (35). Esa reducción de los caudales afectaría la salinidad del agua superficial incrementándola (27).

Deis *et al.* (2015) realizaron un análisis de los índices climáticos que contempla la precipitación anual en la estación San Martín en los últimos 50 años, detectando una disminución de los días de lluvia pero con aumento de la precipitación anual, es decir, menor cantidad de eventos pero de mayor magnitud cada uno.

La cuenca del río Tunuyán -provincia de Mendoza- abarca una superficie de

18.954 km<sup>2</sup>, situada en las zonas centro-norte y centro de la provincia, dando origen a las subcuencas superior e inferior. El dique embalse El Carrizal, de 360 hm<sup>3</sup> de capacidad, almacena los caudales no utilizados en la subcuenca alta, delimitando el extremo superior de la subcuenca del RTI (21).

La subcuenca del RTI se desarrolla en una llanura que disminuye en altura de 800 a 500 metros en sentido oeste-este. Tanto el clima como los suelos son favorables para la producción de viñedos de alta calidad y adecuada productividad, aprovechándose además para el cultivo de durazneros, ciruelos y olivos entre otros. En esta subcuenca, con aproximadamente 100.000 ha habilitadas para riego superficial y alrededor de 7.800 establecimientos agrícolas se destaca la vitivinicultura sobre todas las otras actividades (64% de la superficie regada), seguida en orden de importancia por la producción de frutales entre los que se encuentra el olivo, las hortalizas y las pasturas y actividades forestales. En suma, la superficie cultivada con vid, con derecho a riego que utiliza agua subterránea sobrepasan las 50.000 ha (21).

Chambouleyron *et al.* (2002) estiman un aumento de la salinización del agua (hasta 1,4 dS.m<sup>-1</sup>) y de los suelos de la subcuenca inferior como consecuencia de la disminución de caudales aguas abajo de la cuenca superior. La misma estaría afectada por un fuerte crecimiento de la superficie cultivada con viticultura de calidad (más de 15.000 ha del cultivar Malbec), regada casi exclusivamente con riego presurizado localizado, a expensas del bombeo intensivo. Este escenario estaría alertando sobre posibles aumentos de salinidad del agua y lógicas disminuciones de producción de los cultivos que con ella se riegan y su impacto en la economía regional y nacional.

Morábito *et al.* (2004) muestran mapas con altos niveles salinos vinculados con problemas de drenaje subsuperficial en las zonas centro y norte del área regadía del río Mendoza. Igualmente se observan problemas similares en el área comprendida entre el río Mendoza y el río Tunuyán donde estos presentan su mayor cercanía. Los autores afirman también que considerando el factor estado del suelo (cultivado e inculco), y para un ( $\alpha \leq 0,05$ ) en todos los casos analizados, la CEes del suelo inculco es significativamente superior a la del suelo cultivado. Cuando se analiza la totalidad del área sujeta a estudio (372.610 ha), se observa que el 63% de la cuenca tiene niveles de salinidad edáfica en el primer medio metro de suelo, inferiores a 8 dS.m<sup>-1</sup>.

Con respecto al uso del suelo y su correspondencia con los distintos niveles de salinidad, el trabajo permite visualizar con claridad cómo la superficie cultivada (51% del total) disminuye a medida que aumenta la salinidad del suelo y prácticamente se hace nula cuando esta supera los 8 dS m<sup>-1</sup>.

Morábito *et al.* (2010) en un trabajo sobre la evolución de la salinidad de suelos regadíos realizado dentro del área cultivada en la cuenca del río Mendoza, colindante con la cuenca del RTI, concluye que no existen diferencias significativas de CEes entre las lecturas obtenidas en los años 1973 y 2002.

En estudios realizados sobre la problemática de la salinidad de los suelos (Mirábito *et al.*, 2010) se observó que en el área de regadío del RTI los agricultores tienden a aplicar láminas de riego que superan con creces los requerimientos de lixiviación y que los problemas de salinidad de suelo se debían a la existencia de sectores con niveles freáticos elevados.

El mismo autor indica además que durante el año 2002 se había producido una desalinización significativa ( $\alpha \leq 0,05$ ) de los suelos en aproximadamente el 60% de la subcuenca, no encontrando diferencias significativas en la salinidad de los suelos cultivados cuando se comparaban las dos profundidades para un mismo año de estudio. Por el contrario, se encontró diferencias significativas ( $\alpha \leq 0,05$ ) cuando la comparación se efectuaba entre los años 1985 y 2002.

No obstante, debido al crecimiento del área cultivada en la cuenca del río Tunuyán Superior, es que resulta necesario monitorear la salinidad en los suelos de la cuenca baja, para asegurar la sustentabilidad del sistema.

### Objetivos

Determinar la evolución espacial-temporal de la salinidad edáfica, a partir de mediciones de conductividad eléctrica del extracto de saturación del suelo (CEes) en la zona cultivada de la subcuenca del RTI.

Disponer de información básica para elaborar estrategias de recuperación de los suelos.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Geográficamente la zona de estudio comprende los departamentos de Junín, San Martín y Rivadavia y geomorfológicamente se encuentra en zonas de mesetas y llanuras, donde la presencia de salinas determina la aridez de la región. La temperatura media anual de 14°C y la precipitación media anual de 200 mm, caracterizan a un clima seco y fresco que es el que predomina en este sector. Las lluvias se dan en verano y primavera, siendo la evapotranspiración media anual de 1525 mm (24). El agua de riego utilizada en la zona, presenta valores de salinidad del orden de 1,4 dS.m<sup>-1</sup> con una desviación estándar de 0,18, siendo el RAS

de 1,5 con una desviación estándar de 0,42 (30), correspondiéndole la categoría C3-S1 según Riverside modificada por Thorne y Petersen (3).

En la zona predominan los suelos de texturas franco arenosa a francas (5). La clasificación utilitaria de suelos con fines de riego más reciente en la subcuenca del RTI, resulta en 16,9% Clase I, 67,8% Clase II, 11,8% Clase III, 3,2% Clase IV y 0,2% Clase VI (34).

En cuanto a los cultivos predominantes, la vid, olivo, frutales de carozo (duraznero, ciruelo y damasco), hortalizas (tomate y ajo) y forrajeras. Es importante destacar que la zona se riega con recurso superficial, subterráneo o una combinación de ambos (21).

Para el diseño estadístico del muestreo se tomó como unidad de análisis la propiedad o finca. El tamaño de muestra fue diseñado en el año 2002 para un error de muestreo del 10% con respecto a la media de la CEes para ambas profundidades. Se utilizaron datos (desviación típica y media) obtenidos de trabajos previos (Miráble *et al.*, 2010) y un valor de  $z = 1,96$  que es el valor relacionado con el 0,95 de probabilidad (95% de confiabilidad). Este diseño llevó a una muestra de  $n_1 = 142$  unidades. En el año 2007 por motivos económicos se tomó una muestra menor de  $n_2 = 88$ , lo que llevó a un error de estimación del 14% válido a los fines del presente estudio. Posteriormente se verificaron los errores de estimación en función de los estadígrafos obtenidos.

La selección de las fincas fue realizada teniendo en cuenta principalmente dos criterios: primero, que las mismas se distribuyeran aproximadamente en igual cantidad en las diferentes zonas de riego y sobre los canales más representativos de cada una de ellas y segundo, tomadas sobre propiedades con derecho de riego superficial. Dentro de estas zonas las propiedades se seleccionaron en forma aleatoria.

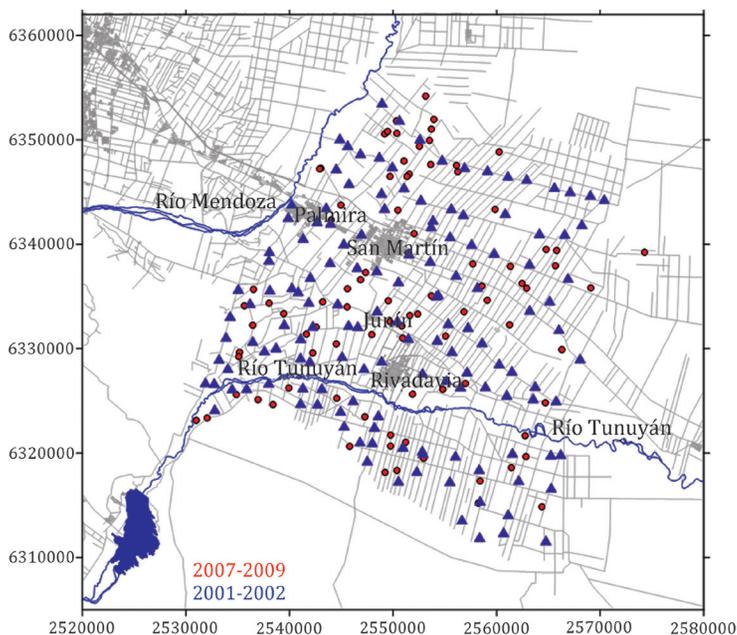
Se realizaron dos campañas de muestreo en la zona cultivada, la 1<sup>o</sup> durante el período agosto 2001-octubre 2002 en la que se relevaron 142 sitios y la 2<sup>o</sup> durante el período otoño 2007-otoño 2009, con 88 sitios de muestreo. En cada uno de los sitios se extrajeron muestras de suelo a dos profundidades: 0-0,50 m y 0,50 - 1 m, en las cuales se determinó la CEEs, por el método del extracto de saturación (USDA) (33), corregida a temperatura de 25°C. La figura 1 muestra la ubicación de los sitios de muestreo: 142 (campaña 2001-2002) y 88 (campaña 2007-2009).

A fin de identificar áreas y evolución de la salinidad del suelo en la zona de estudio, se trazaron curvas de isosalinidad para las dos profundidades mencionadas en ambas campañas de muestreo utilizando el programa SURFER (32), con equidistancia de 2 dS.m<sup>-1</sup>.

A partir de la superposición de las curvas de isosalinidad se determinó la superficie porcentual que presentaba incremento o disminución de la CEEs, con el objeto de determinar la evolución a fin de visualizar fácilmente la tendencia de la salinidad en la zona de estudio.

Se analizó la normalidad (test de Shapiro-Wilk) de la variable CEEs, se determinaron las medidas de posición y dispersión de las muestras analizadas, y -a partir del test de Wilcoxon- se compararon las medianas a fin de identificar diferencias significativas ( $\alpha \leq 0,05$ ) entre ellas.

Se realizaron las siguientes comparaciones: (1) dentro de cada época de muestreo (2002 y 2009) y para cada profundidad de suelo (0 a 0,50 y 0,50 a 1 m) y (2) el ciclo 2002 *versus* el 2009, para cada profundidad de suelo (0 a 0,50 y 0,50 a 1 m).



**Figura 1.** Puntos de muestreo campañas 1 (2001-2002) y 2 (2007-2009).

**Figure 1.** Sampling points - periods 1 (2001-2002) and 2 (2007-2009).

La clasificación de los suelos se realizó siguiendo la "Guía para la descripción de suelos" (9), que considera suelos no salino a aquellos que tienen la CEes menor a  $0,75 \text{ dS.m}^{-1}$ , ligeramente salino ( $0,75$  a  $2 \text{ dS.m}^{-1}$ ), moderadamente salino ( $2$  a  $4 \text{ dS.m}^{-1}$ ), fuertemente salino ( $4$  a  $8 \text{ dS.m}^{-1}$ ), muy fuertemente salino ( $8$  a  $15 \text{ dS.m}^{-1}$ ) y extremadamente salino (mayor a  $15 \text{ dS.m}^{-1}$ ).

Se analizaron distintos factores que podrían justificar la tendencia a la disminución de la salinidad, entre los cuales se destacan la disminución de niveles freáticos, las nuevas obras de impermeabilización de canales, la precipitación y las láminas de riego aplicadas.

A los últimos dos factores se les aplicó el test de Mann-Kendall, a fin de detectar la existencia de tendencia monótona o cambio (gradual o súbito), durante los ciclos analizados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aplicación del Test de Shapiro-Wilk, para analizar estadísticamente la variable CEes, permitió rechazar la hipótesis de

normalidad de las muestras a distinta profundidad en ambas campañas. Se calcularon además las medidas de posición y dispersión (tabla 1) y se graficaron los diagramas de cajas (figura 2, pág. 86).

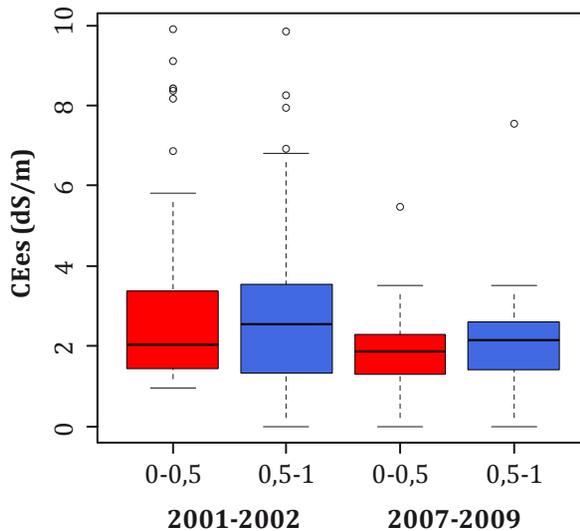
A partir de los diagramas de cajas y bigotes, se observa en todos los casos una asimetría con un incremento de la variable CEes en profundidad y una disminución en el tiempo. En la campaña 1 el 25% de los valores supera los  $3,23 \text{ dS.m}^{-1}$  y  $3,50 \text{ dS.m}^{-1}$  en superficie y profundidad respectivamente, mientras que en la campaña 2 fueron de  $2,30 \text{ dS.m}^{-1}$  y  $2,5 \text{ dS.m}^{-1}$  mostrando claramente la tendencia decreciente de la CEes en el tiempo. Por otro lado, los valores atípicos o extremos observados durante la campaña 1, presentes en las dos profundidades muestreadas, se redujeron notoriamente en la campaña 2, mostrando una menor dispersión de los datos.

Luego se aplicó el test de Wilcoxon, a fin de comparar las medianas de las muestras relacionadas y determinar si existieron o no diferencias significativas entre ellas, partiendo de la premisa que las muestras no presentan normalidad.

**Tabla 1.** Salinidad del extracto de saturación del suelo. Medidas de posición y dispersión, según profundidad (campañas 1 y 2).

**Table 1.** Salinity of the soil saturation extract. Measures of position and dispersion according to soil depth (periods 1 and 2).

Estimadores	CEes: campaña 1		CEes : campaña 2	
	0-0,5 m	0,5-1,0m	0-0,5 m	0,5-1,0m
Mínimo ( $\text{dS.m}^{-1}$ )	0,958	0,823	0,562	0,544
Máximo ( $\text{dS.m}^{-1}$ )	9,900	9,860	5,470	7,540
Promedio ( $\text{dS.m}^{-1}$ )	2,563	2,653	1,905	2,080
Mediana ( $\text{dS.m}^{-1}$ )	2,025	2,580	1,875	2,152
Desvío estándar	1,669	1,617	0,796	0,988
Coefficiente de variación	0,64	0,61	0,41	0,47
Número de observaciones	142	141	88	88
Error de estimación (%)	10,7	10,1	8,7	9,9



**Figura 2.** Diagrama de caja y bigotes para la campaña 1 y 2, a profundidades de 0-0,5 m; y 0,5-1 m.

**Figure 2.** Box-and-whisker plot for period 1. V1: 0-0.5 m soil depth; V2: 0.5-1 m soil depth.

Primeramente se contrastaron para cada campaña las muestras obtenidas a ambas profundidades: en la campaña 1 no se encontraron diferencias significativas ( $\alpha \leq 0,05$ ) al contrario que en la campaña 2, ratificando lo observado en la figura 2.

En referencia a la variación de la CEs en el tiempo, más precisamente, en los ciclos 2001-2002 y 2007-2009, los resultados muestran para ambas profundidades diferencias significativa ( $\alpha \leq 0,05$ ), evidenciando una tendencia a la disminución de la salinidad.

Esta tendencia a la disminución de la salinidad puede deberse a varios factores, entre los cuales se destacan: a) una reducción de las áreas afectadas con problemas de niveles freáticos cercanos a la superficie del suelo, como consecuencia de la impermeabilización de los canales de riego (esencialmente primarios

y secundarios) y b) un incremento de las precipitaciones o de los volúmenes derivados para riego en los años previos al muestreo del ciclo 2007-2009 respecto de los años anteriores al ciclo 2001-2002.

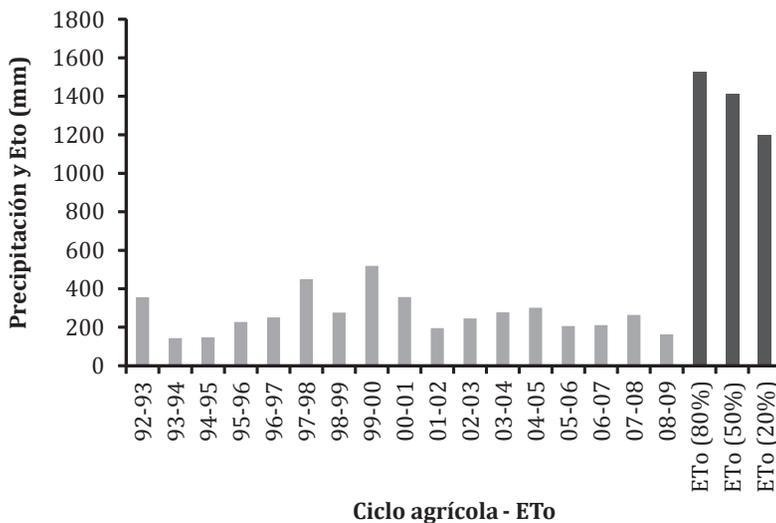
Respecto del factor a) se analizaron estudios realizados por Ortiz Maldonado (2015, 2016) en la zona de la cuenca del RTI, encontrando valores medios anuales de la profundidad freática de 2,59 m para el año 2002 y de 3,93 m para el año 2008, lo cual evidencia un importante descenso de las napas freáticas de 1,34 m en el período 2002-2009.

Se realizó además un análisis del estado de la red de riego del área regadío del RTI (8). El área posee una red de 2588 km de canales, de este total 383 km son primarios, 426 km son secundarios y 1779 km son terciarios; solo el 7,3% estaba revestido al año 2000. Debido a que una alta proporción de los suelos poseen

texturas franco arenosa a francas (5, 33), las pérdidas de agua en la red de canales es alta, lo cual contribuye con la elevación de los niveles freáticos. Es necesario recordar que los canales primarios están dotados con agua la mayor parte del tiempo, mientras que los terciarios distribuyen agua por turnado, uno de cada ocho a doce días. Durante el período 2001-2009, se revistieron un 4,7% de la red, alcanzando un total de 12%. Si bien el porcentaje de canales revestidos respecto del total es aún bajo, los canales primarios impermeabilizados entre el año 2001-2009 tuvieron un incremento del 43% (se revistieron 63 km sobre 150 km que existían al año 2000). Un análisis similar puede ser realizado en los canales secundarios, que pasaron de 31 km en el año 2000 a 86 km en el año 2009 (55 km nuevos) generando un

aumento del 177%. Estos importantes incrementos en la proporción de canales primarios y secundarios impermeabilizados han reducido fuertemente las pérdidas por infiltración contribuyendo al marcado descenso de las napas freáticas en la zona.

Con respecto al factor b) se analizaron las precipitaciones diarias registradas en la estación San Martín perteneciente al SMN, en el período 1992-2009. La figura 3 muestra los valores de precipitación total por ciclo agrícola (julio-junio) desde el año 1992 al 2009. Se observa que los valores promedios de los ciclos 1992-2001 y 2001-2009 son de 302,8 mm y 232,8 mm respectivamente, con valores máximos superiores a los 400 mm en los ciclos 99-00 y 97-98.



**Figura 3.** Precipitación por ciclo agrícola y evapotranspiración del cultivo de referencia para distintas probabilidades de ocurrencia.

**Figure 3.** Precipitation per agricultural cycle and crop evapotranspiration for different probabilities of occurrence.

La prueba estadística no paramétrica de Mann-Kendall, de análisis de tendencia de la precipitación acumulada por ciclo agrícola desde 1992-2009 arrojó un valor de  $Z = -0,12$ , lo cual indica que no existe tendencia estadísticamente significativa (tabla 2). Así, se puede asociar el valor del estadístico S estandarizado al de la variable Z -normal estandarizada- y calcular el nivel de significación de la prueba (valor-p).

Por otro lado, se compararon los valores de precipitación por ciclo para la estación San Martín, con los valores de evapotranspiración de referencia ETo, según probabilidad de ocurrencia, y se observa que la

ETo es 4,4 a 5,6 veces mayor que la precipitación (figura 3, pág. 87) (23).

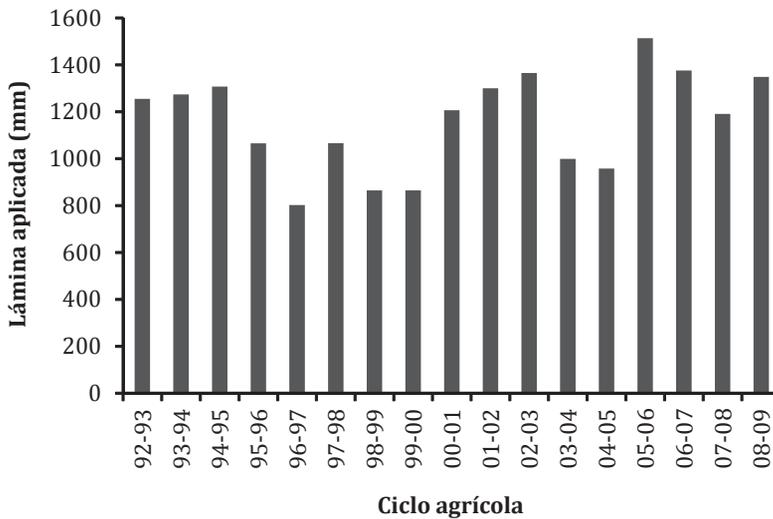
La figura 4 presenta las "láminas de riego aplicadas" durante los diferentes ciclos agrícolas (julio 1979-junio 2009) obtenidas a partir de la transformación de los volúmenes (8) derivados para riego desde el dique Tiburcio Benegas (cabecera del área regada) y la superficie efectivamente regada de 86.454 ha.

Los resultados del estudio de análisis de tendencia (Mann-Kendall) a dichas láminas (alturas de agua) muestran un valor de  $Z = -0,68$ , lo que indica que no existe tendencia estadísticamente significativa de la variable analizada (tabla 3).

**Tabla 2.** Resultados del análisis estadístico de tendencias de precipitaciones según Mann-Kendall.

**Table 2.** Results of the statistical analysis of precipitation trends according to the Mann-Kendall test.

S	VARs	Z	B (estimador de la pendiente)
-4,0	589,3	-0,12	-0,005



**Figura 4.** Lámina de agua aplicada en el área de estudio por ciclo agrícola.

**Figure 4.** Water depth applied to the area per agricultural cycle.

**Tabla 3.** Resultados del análisis estadístico de tendencias de láminas aplicadas.

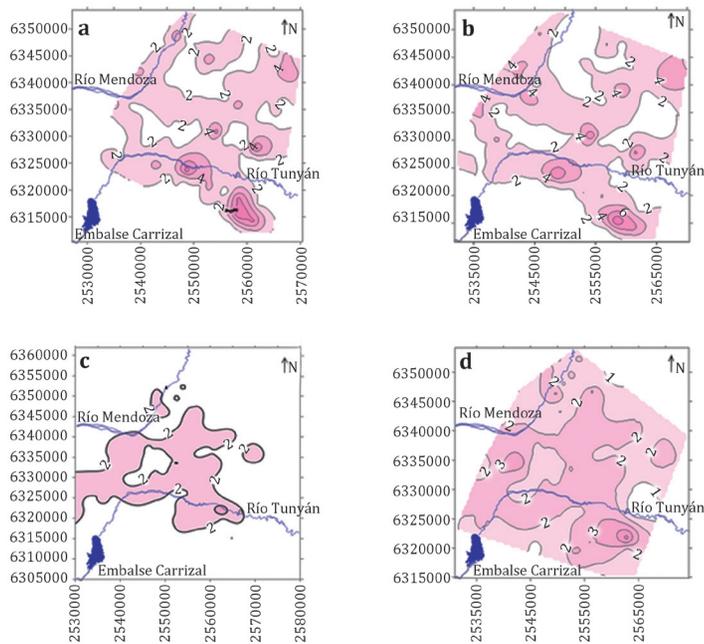
**Table 3.** Results of the statistical analysis of water depth trends.

S	VARS	Z	B (estimador de la pendiente)
-39,0	3141,7	-0,68	-0,002

Del análisis de los factores que podrían explicar la disminución de la CEs, se observa que dicha disminución se debería a la profundización de los niveles freáticos causado por la reducción de las pérdidas por infiltración debidas a la impermeabilización de los canales de riego.

En lo que respecta al análisis espacial de la CEs, la figura 5, presenta los mapas de isosalinidad en coordenadas geográficas

Gauss-Kruger. Se determinó que en la campaña 1 -y según la clasificación de FAO (2009)- el 49 % de la superficie a nivel de estrato superficial y el 55 % del estrato más profundo corresponden a suelos moderadamente salinos ( $2$  a  $4$  dS.m<sup>-1</sup>), mientras que 45 % y 38% de los estratos superficiales y profundos respectivamente, son ligeramente salinos ( $0$ - $2$  dS.m<sup>-1</sup>) (figura 5 a y b, tabla 4, pág. 90).



Ref.: a) Campaña 1: estrato 0 - 0,5 m; b) Campaña 1: estrato 0,50 - 1 m; c) Campaña 2: estrato 0 - 0,5 m; d) Campaña 2: estrato 0,50 - 1 m.

Ref.: a) Period 1: 0-0.5 m soil depth; b) Period 1: 0.50-1 m soil depth; c) Period 2: 0-0.5 m soil depth; d) Period 2: 0.50-1 m soil depth.

**Figura 5.** Mapas de isosalinidad de suelo en la cuenca del RTI, para los estratos superficial y profundo, correspondientes a las campañas 1 y 2.

**Figure 5.** Soil iso-salinity maps of the superficial and deep strata of the Lower Tunuyán River Basin for periods 1 and 2.

Un análisis similar para la campaña 2, muestra que a nivel superficial el 60% del área posee suelos ligeramente salinos y el 39% moderadamente salinos, mientras que a mayor profundidad los porcentajes son 42 y 56%, respectivamente (figura 5 c y d, pág. 89; tabla 4).

En la campaña 1 se obtuvieron valores puntuales mayores a  $8 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ , los cuales no superaban el 1% de la superficie tanto en los estratos superficiales como en los profundos; en la campaña 2, por el contrario, no se encontraron valores en dicho rango, sin embargo los mayores valores del orden de los  $7 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ , se registraron en la misma zona que en la campaña 1.

Se observa así una clara tendencia a la disminución de la salinidad, alcanzando un 64% de la superficie en el estrato superficial y un 90% en los estratos más profundos (tabla 5).

Es importante mencionar que Mirábile *et al.* (2010), analizando y comparando el período 1985-2002, advierten también una tendencia a la disminución de la salinidad en el área, en aproximadamente un 60% de la superficie analizada.

## CONCLUSIÓN

El presente trabajo demuestra que la CEes en el suelo ha disminuido significativamente ( $\alpha < 0,05$ ) en el área de estudio entre las campañas 1 y 2. Esta disminución se ha evidenciado tanto en superficie como en profundidad. Además se encontraron diferencias significativas entre las dos profundidades en la campaña 2007-2009.

Espacialmente se ha observado un incremento del área correspondiente a suelos clasificados como ligera y moderadamente salino del 93% (2001-2002) al 99% (2007-2009), confirmando la disminución de los tenores salinos.

**Tabla 4:** Porcentaje de superficies afectadas por salinidad y rangos de CEes.

**Table 4:** Salinity affected areas (%) and Ece ranges.

CEes ( $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$ )	Superficie afectada (%)			
	Campaña 1		Campaña 2	
	Profundidad		Profundidad	
Rango	0-0,50 m	0,50-1 m	0-0,50 m	0,50-1 m
0 - 2	45,03	37,87	60,46	42,57
2 - 4	48,69	54,56	39,26	56,20
4 - 8	5,96	7,51	0,28	1,23
>8	0,32	0,07	0,00	0,00

**Tabla 5.** Variación de salinidad años 2002-2009.

**Table 5.** Soil salinity variations 2002-2009.

Año 2002 - 2009	Variación superficie afectada (%)	
Profundidad	0 a 0,5 m	0,5 a 1 m
Aumento	36	10
Disminución	64	90

Además se han analizado los factores que inciden en este proceso: variación de los niveles freáticos, obras de impermeabilización de canales, precipitación, ETo y lámina de agua derivada para riego. El trabajo demuestra que no se ha observado una tendencia significativa de la precipitación y de las láminas de riego aplicadas en el área regadía que incida sobre la CEes. Se destaca que la ETo es aproximadamente 5 veces mayor que la precipitación, descartando la incidencia de esta última sobre el parámetro analizado.

Por otro lado, en el mismo período se ha observado un marcado descenso de los niveles freáticos y de las áreas afectadas, en concordancia con importantes obras de impermeabilización de canales en el área

de estudio (incrementos del 43% y 177% en los canales primarios y secundarios respectivamente).

Por lo tanto, la disminución de la CEes debería ser atribuida a la disminución de los niveles freáticos y de sus áreas afectadas, producto de adecuadas obras de infraestructura de riego.

Se destaca, que el monitoreo de la salinidad de los suelos en conjunto con la elaboración de mapas de curvas de isosalinidad conforman una importante herramienta para el análisis y evaluación de la situación del oasis. Esta información contribuye también a implementar estrategias de riego, a recuperar los suelos y a planificar la asignación del recurso hídrico disponible.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Abrol, I. P.; Yadav, J. S. P.; Massoud, F. I. 1988. Salt affected soil and their management. FAO. Soil. Bull. 39:131. Rome, Italy.
2. Agüero, C.; Dandekar, A. M.; Meredith, C. P. 2005. Transgenic grapevine plants expressing green fluorescent proteins targeted to the apoplast. *Acta horticulturae*. 689(689): 475-480.
3. Avellaneda, M.; Bermejillo, A.; Mastrantonio, L. 2004. Aguas de riego: calidad y evaluación de su factibilidad de uso. EDIUNC. Mendoza, Argentina.
4. Bresler, E.; Mc Neal, B. L.; Carter, D. L. 1982. Saline and sodic soils: principles, dynamics, modeling. Springer Verlag, New York. Gerasimov, I. P. 1960.
5. Chambouleyron, J.; Marchevsky, P.; Poletto, M.; Delgado, S. 1975. Clasificación utilitaria con fines de riego de los suelos agrícolas del área media del río Tunuyán. INCyTH-INTA-DGI-CRAS. Mendoza, Argentina.
6. Chambouleyron, J.; Salatino, S.; Drovandi, A. y otros. 2002. Conflictos Ambientales en áreas regadías. Evaluación de impactos en la cuenca del río Tunuyán, Mendoza, Argentina. UNCuyo-FONCYT-INA, Mendoza (ISBN 987-1024-17-7).
7. Dagar, J. C.; Minhas, P. S. 2016. Global perspectives on agroforestry for the management of salt-affected soils. In: *Agroforestry for the Management of Waterlogged Saline Soils and Poor-quality Waters*, Edition: 1<sup>st</sup>, Publisher: Springer, Editors: JC Dagar & PS Minhas. p. 5-32.
8. Deis, L.; de Rosas, M. I.; Malovini, E.; Cavagnaro, M.; Cavagnaro, J. B. 2015. Impacto del cambio climático en Mendoza. Variación climática en los últimos 50 años. Mirada desde la fisiología de la vid. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 47(1): 67-92.
9. DGI. 2009. Planes Directores del Departamento General de Irrigación. Mendoza, Argentina
10. FAO. 2009. Guía para la descripción de suelos. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia.
11. FAO. 2015. Estudio del potencial de ampliación del riego en Argentina. UTF/ARG/017 Desarrollo Institucional para la Inversión. UCAR - PROSAP. Roma, Italia.

12. FAO and ITPS. 2015. Status of the World's Soil Resources (SWSR)-Main Report Chapter 12: Regional Assessments of Soil Changes in Latin America and the Caribbean. Food and Agriculture Organization of the United Nations and Intergovernmental Technical Panel on Soils, Rome, Italy. Available in: <http://www.fao.org/3/a-bc601e.pdf>
13. Flowers, T.; Troke, P. F.; Yeo, A. R. 1977. The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28: 89-121.
14. Galinski, E. A. 1993. Compatible solutes of halophilic eubacteria: molecular principles, water-solute interaction, stress protection. *Experientia.* 49: 487-496.
15. Greenway, H; Munns, R. 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 31: 149-190.
16. Hoffman, G. J.; Jobs, J. A. 1983. Leaching requirement for salinity control. III. Barley, cowpea, and celery. *Agric. Water Manage.* 6: 1-14.
17. Kahlow, M. A.; Tahir, M. A.; Ashraf, M. 2003. Water quality issues and status in Pakistan. Proceedings of seminar on strategies to address the present and future water quality issues. Pakistan Council of Research in Water Resources Islamabad. Publication No. 123.
18. Loomis, R. S. 1983. Crops manipulation for efficient use of water. In H.M. Taylor, W.R. Jordan and T.R. Sinclair (Editors). Limitations to efficient water use in crop production. ASA-CSSA-SSSA. Madison WI. p 345-374.
19. Maas, E. V. 1993. Testing Crops for Salinity Tolerance. Proc. Workshop on Adaptation of Plants to Soil Stresses. p. 234-247. In: J. W. Maranville, B. V. Baligar, R. R. Duncan, J. M. Yohe. (Eds.). INTSORMIL. Pub. No. 94-2, Univ. of Ne, Lincoln. U.S. Salinity Laboratory, USDA-ARS. Riverside, CA.
20. Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plant, 2nd Ed. Academic Press, San Diego, CA. 889 p.
21. Martínez, S. J. 2009. Cuenca N° 57 Cuenca del Río Tunuyán. Sitio web de la Subsecretaría de recursos hídricos: [http://www.hidricosargentina.gov.ar/documentos/referencias\\_i8/57.pdf](http://www.hidricosargentina.gov.ar/documentos/referencias_i8/57.pdf)
22. Mengel, K.; Kirkby, E. A. 2001. Principles of plant nutrition. 5th Eds. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. The Netherlands. 849 p.
23. Mirábito, C.; Morábito, J.; Manzanera, M.; Tozzi, D. 2010. Dinámica de la salinidad del suelo en el oasis del río Tunuyán Inferior comparación 1985-2002. III Jornadas de Actualización en Riego y Fertirriego. Mendoza. Disponible en <http://www.ina.gov.ar/cra/index.php?cra=39>
24. Morabito, J.; Martínez Tivoli, J.; Salatino, S.; Mirabile, C. 2002. Necesidades de riego en el área de influencia del río Mendoza. XIX Congreso Nacional del Agua. Córdoba Argentina.
25. Morábito J.; Mirábito, C.; Pizzuolo, P.; Tozzi, D.; Manzanera, M.; Mastrantonio, L. 2004. Salinidad de suelos regadíos e incultos en el oasis norte de Mendoza-Argentina. XIX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Paraná, Entre Ríos-Argentina.
26. Morábito, J.; Mirábito, C.; Manzanera, M.; Cappé, O.; Tozzi, D.; Mastrantonio, L. 2010. Evolución de la salinidad de suelos regadíos e incultos en el área del río Mendoza. XX Congreso Nacional Del Agua - III Simposio De Recursos Hídricos Del Cono Sur. Conagua 2005. Argentina.
27. Morábito, J. A.; Salatino, S.; Campos, S.; Maffei, J.; Mastrantonio, L.; Stocco, A.; Mestre Sanchis, F.; Genovese, D. 2012. Estimación de los incrementos de la salinidad del agua superficial en la cuenca del río Tunuyán como consecuencia del impacto climático. Congreso de Riego de Albacete. AERYD-CERYD. España.
28. Munns, R.; Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology, Australia.* 59: 651-681.
29. Ortiz Maldonado, G. 2016. Base de datos de niveles freáticos del área de regadío del río Tunuyán Inferior. Departamento General de Irrigación, Mendoza.
30. Ortiz Maldonado, G.; Femenía, A.; Carmona, V.; Morales, H. 2015. Evolución de las profundidades y salinidades freáticas durante el período seco 2008-2014 en "Lavalle" y "río Tunuyán Inferior" - provincia de Mendoza. Conagua 2015. Entre Ríos.
31. Salatino, S.; Morabito, J.; Bermejillo A.; Dediol C.; Stocco A.; Tapia O.; Miralles S.; Hernández R.; Mastrantonio, L.; Genovese, D.; Ortiz, N. (2016, en prensa). Río Tunuyán Superior (Mendoza, Argentina) Ocho años de registros de calidad de agua. Análisis evolutivo de la contaminación. Revista AUGM-DOMUS. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
32. SURFER. Surface Mapping System, version 11.6.1159. 2013. Golden software Inc. USA.

33. USDA. 1954. Manual de diagnóstico y recuperación de suelos salinos y sódicos. Manual de Agricultura N° 60. USA.
34. Vallone, R; Maffei, J. A.; Morábito, J.; Mastrantonio, L.; Lipinski, V.; Filippini, M.; Olmedo, F; Castro, G. 2007. Mapa utilitario de suelos y riesgo de contaminación edáfica en los oasis irrigados de la provincia de Mendoza. Jornadas de Investigación en Recursos Hídricos, Espacio para la Ciencia y Tecnología, Mendoza.
35. Villalba, R. 2008. Cambio climático, oferta hídrica y agricultura en el oeste argentino. IV Jornadas de Riego y Fertirriego. Mendoza, Argentina. 106 p.
36. Xing, W.; Wenming, H.; Liu, G. 2010. Effect of excess iron and copper on physiology of aquatic plant *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleid. *Environmental Toxicology*. 25: 103-112.
37. Yaduvanshi, N. P. S.; Swarup, A. 2005. Effect of continuous use of sodic irrigation water with and without gypsum, farmyard manure, pressmud and fertilizer on soil properties and yields of rice and wheat in a long-term experiment. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 73: 111-118.
38. Zhang, H.; Blumwald, E. 2001. Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nature Biotechnology*. 19: 765-768.

## **Abonos obtenidos del compostado de heces de ganado bovino de leche vs. fertilizante en la producción de triticale (*X Triticum secale* Wittmack)**

### **Compost obtained from feces of dairy cattle vs. fertilizer on triticale production (*X Triticum secale* Wittmack)**

Miguel Ángel Beltrán Santoyo <sup>1</sup>, Gregorio Álvarez Fuentes <sup>1\*</sup>,  
Juan Manuel Pinos Rodríguez <sup>2</sup>, Juan Carlos García Lopez <sup>1</sup>, Rigoberto Castro Rivera <sup>3</sup>

Originales: Recepción: 20/04/2016 - Aceptación: 30/11/2016

Nota científica

#### **RESUMEN**

El uso de abono es cada vez más frecuente en la agricultura por su efecto positivo sobre la fertilidad del suelo. El objetivo del presente estudio fue determinar la altura de planta, número de tallos por m<sup>2</sup>, longitud foliar, número de hojas por tallo y rendimiento de materia seca de triticale (*X Triticum secale* Wittmack), fertilizado con abono (humus de lombriz y ácidos húmicos) y urea. Los tratamientos fueron: humus de lombriz, ácidos húmicos, urea, humus de lombriz + urea, ácidos húmicos + urea y testigo. Se utilizó un diseño completo al azar, con 6 tratamientos y 3 repeticiones, en unidades experimentales de 60 m<sup>2</sup> y densidad de siembra de 100 kg de semilla por ha. Los mayores resultados de producción indican que la combinación de la fertilización orgánica e inorgánica fue mejor que los demás tratamientos ( $p < 0,05$ ), sin embargo, no hubo diferencias en las propiedades bromatológicas ( $p > 0,05$ ). La producción de triticale en los tratamientos con urea fue hasta un 70% superior al testigo y a los tratamientos únicamente con abonos.

#### **Palabras clave**

humus de lombriz • ácidos húmicos • producción de triticale

- 
- 1 Instituto de Investigaciones de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Calle Altaír No. 200, Colonia del Llano, C. P. 78377, San Luis Potosí, S.L.P., México. \* gregorio.alvarez@uaslp.mx.
  - 2 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, Miguel Ángel de Quevedo s/n esq. Yáñez Col. Unidad Veracruzana. C.P. 91710. Veracruz, México.
  - 3 Instituto Politécnico Nacional CIBA Tlaxcala, Ex-Hacienda San Juan Molino, Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km. 1.5, C. P. 90700, Tlaxcala. México.

## ABSTRACT

The use of compost obtained from feces is increasingly common in agriculture for soil fertility, the objective of this study was to determine the plant height, number of stems per m<sup>2</sup>, leaf length, number of leaves per stem and dry matter yield of triticale (*X Triticum secale* Wittmack), fertilized with compost (humus and humic acids) and urea. A complete randomized design was used with 6 treatments and 3 replications in experimental units of 60 m<sup>2</sup> and seeding density of 100 kg of seed per ha. The treatments were: humus, humic acids, urea, humus + urea, humic acids + urea and control. The higher production indicate that the combination of organic and inorganic fertilization was better than the other treatments ( $p < 0.05$ ), however, there were no differences in the bromatological properties ( $p > 0.05$ ). The production of triticale in treatments with urea was up to 70% higher than the control and another treatments evaluated.

### Keywords

Earthworm humus • humic acids • triticale yield

## INTRODUCCIÓN

El estiércol de ganado bovino es una fuente importante de nutrientes y si no es tratado de manera adecuada pueden convertirse en una fuente de contaminantes para los mantos freáticos y suelo. Las vacas lecheras excretan al ambiente entre el 70 y 85% de Nitrógeno (N) y entre el 58 y 75% de Fosforo (P) en heces y orina (2, 22).

Una alternativa viable para el tratamiento de las heces, es el compostaje que se define como la descomposición biológica de los residuos orgánicos en un ambiente aeróbico y vermicompost cuando participan durante el proceso diversas especies de lombrices (4, 10). La aplicación de vermicompost influye en las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo, que mejoran la capacidad de retención de agua, además de contener vitaminas y hormonas de crecimiento para el cultivo (14, 21, 24).

La fertilización orgánica puede satisfacer la demanda de nutrientes de los cultivos reduciendo de manera signifi-

cativa el uso de fertilizantes, mejorando las características del suelo y los vegetales (11, 15, 18). Los cultivos forrajeros de invierno se identifican por producir un alimento con un alto contenido de proteínas e hidratos de carbono solubles con un bajo contenido de fibra, entre los que se destaca el triticale de invierno (*X Triticum secale* Wittmack) por tener un mayor rendimiento y calidad de forraje (17).

El triticale es un cereal sintético resultado de la hibridación del trigo y centeno. El grano de triticale cuenta con un valor nutritivo entre el trigo y centeno, con un contenido de proteína del 11% y de almidón 58%, su contenido de calcio es bajo y es relativamente alto en fósforo, potasio, hierro, zinc y manganeso (8).

### Objetivo

Evaluar si la fertilización orgánica puede satisfacer la demanda de nutrientes de los cultivos reduciendo de manera significativa el uso de fertilizantes, al

determinar la altura de planta, número de tallos por m<sup>2</sup>, longitud foliar, número de hojas por tallo, rendimiento de materia seca y propiedades bromatológicas de triticale, fertilizado con abonos (humus de lombriz y ácidos húmicos) y urea.

**MATERIALES Y MÉTODOS**

El estudio se realizó en la unidad de producción de leche "Rancho el Bordatxo" ubicado en San Felipe, Guanajuato, México, 21°40" N 100°56" O a una altura de 1885 m s. n. m., de donde se obtuvo el humus de lombriz y ácidos húmicos a partir de las heces de ganado lechero de la raza Holstein, alimentado a base de maíz hojuelado, pasta de soya, alfalfa, ensilado de maíz y ensilado de triticale. Los tratamientos T1 = humus de lombriz; T2 = ácidos húmicos; T3 = urea; T4 = humus de lombriz + urea; T5 = ácidos húmicos + urea; T6 = testigo, la dosis de fertilización se presentan en la tabla 1 y se distribuyeron con base a la pendiente del terreno, bajo un diseño completamente al azar con 3 repeticiones, cada unidad experimental estuvo constituida de una parcela de 60 m<sup>2</sup> (5 × 12 m) y una densidad de siembra equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de semillas de triticale. La siembra se realizó con una sembradora

mecánica (Marca John Deere, modelo BD11, U.S.A.), efectuada el 8 de diciembre de 2014, con cinco riegos y fertilización que se llevaron a cabo el 15 diciembre, 24 de diciembre de 2014, 21 de enero, 18 de febrero, y 8 de abril de 2015.

Las variables medidas fueron: densidad de plantas/m<sup>2</sup> y número de tallos planta<sup>-1</sup>, las cuales se determinaron por medio de 3 cuadros fijos de 0,25 m<sup>2</sup> (0,5 m × 0,5 m) para cada tratamiento. La altura de planta (cm) mediante regla graduada con 1mm de precisión desde suelo al tejido vegetal superior de la planta. Para ello se seleccionaron al azar 20 tallos por tratamiento y repetición.

La tasa de elongación foliar (TEF) por tallo, se calculó como la sumatoria de las longitudes de las láminas foliares (cm) por la adición de la longitud total de cada hoja (ecuación 1).

$$TEF = Lf_1 + Lf_2 + Lf_3 + ..... + Lfn \quad (1)$$

donde:

TEF = Tasa de Elongación Foliar.  
Lf = Longitud foliar

Se midió el tamaño de espiga (cm) desde el último entrenudo que inicia la espiga hasta el final de la misma, el diámetro de tallos (mm) con un calibre Vernier al centro de cada tallo y el número de hojas por tallo.

**Tabla 1.** Dosis de fertilización por tratamiento.

**Table 1.** Doses of fertilization by treatment.

Dosis	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Humus de lombriz t ha <sup>-1</sup>	1,5	-	-	1,5	-	-
Ácidos húmicos L ha <sup>-1</sup>	-	20	-	-	20	-
Urea (46,0,0) kg ha <sup>-1</sup>	-	-	50	50	50	-

La cantidad de ácidos húmicos se diluyó en 200 L de agua. T1 = humus de lombriz; T2 = ácidos húmicos; T3 = urea; T4 = humus de lombriz + urea; T5 = ácidos húmicos + urea; T6 = testigo.

The humic acids were diluted in 200 L of water. T1 = Earthworm humus; T2 = humic acids; T3 = urea; T4 = earthworm humus + urea; T5 = humic acids + urea; T6 = control.

Para ello se seleccionaron 10 tallos con espigas al azar por tratamiento y repetición.

El rendimiento de grano se obtuvo al llegar a su madurez fisiológica a los 110 y 135 días de emergencia para lo cual se realizó el corte de 10 tallos, para posteriormente secarlos en estufa de aire forzado (Marca Shel lab, modelo SMO34HP-2, E.U.A.) por 48 horas a 55°C y la trilla se realizó manualmente; el grano se colocó en bolsas de papel, se pesó y calculó rendimiento.

La determinación de cenizas se realizó mediante mufla (Marca LINDBERG, modelo 51894, E.U.A.) a 600°C por 3 horas.

Para obtener el porcentaje de cenizas se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Cenizas \%} = \frac{\text{Pérdida de peso en gramos}}{\text{Peso de la muestra en gramos}} \times 100$$

AOAC, 1990

Los análisis de fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida se realizaron con la técnica de filtro de bolsa para determinación de fibra con un analizador de fibras marca ANKOM modelo A200.

Para cada análisis se pesaron 0,5 ± 0,05 g de materia seca (MS) por separado de la muestra de cada uno de los tratamientos y se introdujeron en bolsas de filtro marca ANKOM modelo F-57. Posteriormente se colocaron en el digestor 1 hora con las respectivas soluciones (detergente ácida y detergente neutra) y luego se secaron en una estufa de aire forzado durante 3 horas a una temperatura de 105°C.

El porcentaje de fibra se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\%FDN = \frac{(W3 - (W1 \times C1))}{W2} \times 100$$

$$\%FDA = \frac{(W3 - (W1 \times C1))}{W2} \times 100$$

donde:

W1 = Peso de la bolsa

W2 = Peso de la muestra

W3 = Peso seco de la bolsa después del proceso de extracción

C1 = Factor de corrección de la bolsa "blanco"

Van Soest, 1991

Para determinar proteína cruda (PC) se utilizó digestor, scrubber (lavador de gases) y destilador (Marca Büchi, modelo K-355, Suiza) y mediante el método Macro Kjeldahl se determinó el contenido de nitrógeno (1).

Para calcular el porcentaje de proteína se multiplicó por un factor de conversión, para el triticale fue 5,83.

### Análisis Estadístico

El diseño para el análisis de la información obtenida fue completamente al azar, con tres repeticiones por tratamiento, mediante el PROC GLM de SAS 9,2 (SAS, 1999), y una prueba de medias de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) (20).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características químicas del suelo se muestran en la tabla 2 (pág. 99).

La composición química del humus de lombriz utilizado en este estudio se muestra en la tabla 3 (pág. 99), el análisis de ácidos húmicos totales resultó en 0,047 g/100 mL de los cuales corresponden el 70% a ácidos fúlvicos y 30% de ácidos húmicos.

Las características del suelo posterior a la adición del humus de lombriz y antes de la siembra en los tratamientos T1 y T4, se pueden observar en la tabla 4 (pág. 99) y como lo menciona Vennila (2012) incrementa el contenido de materia orgánica lo que podría mejorar la capacidad de retención de agua en suelo y promueve un mejor desarrollo de la raíz y absorción de nutrientes.

**Tabla 2.** Características químicas del suelo.

**Table 2.** Chemical characteristics of soil.

Suelo	pH	C.E.	M.O.	N total	Textura		
		mS	%		Arena %	Limo %	Arcilla %
	6,90	0,420	1,22	0,061	52,20	20,00	27,80

C. E. = Conductividad Eléctrica; M. O. = Materia Orgánica; N = Nitrógeno.

E. C. = Electrical Conductivity; O. M. = Organic Matter; N = Nitrogen.

**Tabla 3.** Características químicas del vermicompost utilizado para evaluar la producción de triticale.

**Table 3.** Chemical characteristics of vermicompost.

H %	61,2
M.O. %	64,5
pH	6,2
C.E. dS m <sup>-1</sup>	3
N total %	0,48
P (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) %	0,17
K (K <sub>2</sub> O) %	0,59
Ca %	1,58
Mg %	0,15
S %	0,4
Fe %	1,33
Cu ppm	46,3
Mn ppm	6,51
Zn ppm	29,9
Bo ppm	6,7

H = Humedad; ; M. O. = Materia Orgánica; C. E. = Conductividad Eléctrica.

H = Humidity; O. M. = Organic Matter; E. C. = Electrical Conductivity

**Tabla 4.** Características químicas del suelo posterior a la aplicación del vermicompost.

**Table 4.** Soil chemical characteristics after application of vermicompost.

Suelo	pH	C.E. mS	M.O. %	N total	Textura		
					Arena %	Limo %	Arcilla %
	6,90	0,420	2,92	0,146	54,20	17,64	28,16

C. E. = Conductividad eléctrica; M. O. = Materia orgánica; N = Nitrógeno.

E. C. = Electrical Conductivity; O. M. = Organic Matter; N = Nitrogen.

La emergencia ocurrió a los 15 días posteriores al primer riego, hubo diferencias ( $p \leq 0,05$ ) en todas las variables para los tratamientos con fertilizante químico (urea), a los 45 días de

emergencia; sin embargo, en la fertilización mixta (orgánico-inorgánico) los resultados fueron superiores destacando el tratamiento T4, excepto por la longitud foliar donde resultó mayor el tratamiento T3.

El tratamiento de menor desarrollo fue T2, en cuanto al número de plantas no existe diferencias significativas entre tratamientos lo que indica que la densidad de siembra fue precisa en todos los tratamientos y el uso de abonos no tiene efectos negativos en la germinación (tabla 5).

El mayor desarrollo en los tratamientos con urea se debe a la mayor disponibilidad de Nitrógeno el cual ayuda que el cultivo se desarrolle con mayor rapidez, además de que se encuentra de forma inorgánica que es como lo absorbe más fácilmente

la planta, además de que la fertilización orgánica no fue suficiente para cubrir los requerimientos nutricionales para la producción del triticale (16).

A los 80 días de emergencia los tratamientos con urea, resultaron superiores ( $p \leq 0,05$ ) al resto de los tratamientos en altura, número de tallos, número de hojas por tallo y materia seca, el contraste se presentó en la longitud foliar en donde T3 resultó sin diferencias ( $p > 0,05$ ) al T1, el tratamiento de menor rendimiento fue T2 (tabla 6).

**Tabla 5.** Características agronómicas a los 45 días de emergencia.

**Table 5.** Agronomic characters after 45 days of emergency.

Variables	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Altura cm	30,78 c	20,76 e	33,05 bc	39,55 a	35,51 b	25,83 d
N° de plantas	18,55 a	19,22 a	21,55 a	21,66 a	19,44 a	21,55 a
N° de tallos	43,22 c	44,00 c	84,22 a	91,88 a	80,11 ab	53,33 bc
H/T	3,73 abc	3,26 c	3,93 ab	4,10 a	3,93 ab	3,46 bc
Longitud foliar cm	50,28 b	38,15 c	63,40 a	50,28 b	62,70 a	47,90 bc
M.S. g tallo <sup>-1</sup>	0,63 bc	0,52 c	0,95 a	1,05 a	0,84 ab	0,66 bc

H/T = número de Hojas en Tallo; M. S. = Materia Seca; T1 = humus de lombriz; T2 = ácidos húmicos; T3 = urea; T4 = humus de lombriz + urea; T5 = ácidos húmicos + urea; T6 = testigo. Medias con la misma letra dentro de filas no difieren estadísticamente ( $p > 0,05$ ).

H/T = number of leaves in stem; D. M. = Dry matter; T1 = Earthworm humus; T2 = humic acids; T3 = urea; T4 = Earthworm humus + urea; T5 = humic acids + urea; T6 = control.  
Means with the same literal within rows do not differ statistically ( $p > 0.05$ ).

**Tabla 6.** Características agronómicas a los 80 días de emergencia.

**Table 6.** Agronomic characters after 80 days of emergency.

Variables	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Altura cm	74,81 b	61,78 c	87,03 a	88,40 a	84,85 a	65,95 c
N° de plantas	18,88 a	18,00 a	21,33 a	20,55 a	19,44 a	21,44 a
N° de tallos	41,44 c	43,11 c	81,33 a	73,44 ab	82,77 a	49,88 bc
H/T	3,80 ab	3,46 b	3,76 ab	4,06 a	4,06 a	3,53 b
Longitud foliar cm	51,30 bc	38,84 d	52,12 bc	62,09 a	58,25 ab	43,58 dc
M.S. g t <sup>-1</sup>	1,93 ab	1,14 c	2,31 a	2,45 a	2,15 a	1,44 bc

H/T = número de hojas en tallo; M.S. = materia seca; T1 = humus de lombriz; T2 = ácidos húmicos; T3 = urea; T4 = humus de lombriz + urea; T5 = ácidos húmicos + urea; T6 = testigo.  
Medias con la misma literal dentro de filas no difieren estadísticamente ( $p > 0,05$ ).

H/T = number of leaves in stem; DM = Dry matter; T1 = Earthworm humus; T2 = humic acids; T3 = urea; T4 = Earthworm humus + urea; T5 = humic acids + urea; T6 = control.  
Means with the same literal within rows do not differ statistically ( $p > 0.05$ ).

A los 110 días de emergencia los tratamientos con urea, resultaron superiores ( $p \leq 0,05$ ) al resto de los tratamientos en altura y número de tallos. Los tratamientos no difieren en cuanto al número de plantas y número de hojas por tallo ( $p > 0,05$ ). En lo que se refiere a la producción de materia seca el T1 iguala a los tratamientos con fertilización inorgánica, lo cual se puede deber a que el humus de lombriz constituye una fuente de nutrientes de liberación lenta (5, 6), donde el aporte más importante de N y P de los abonos se da a través del tiempo por mineralización de las formas orgánicas (tabla 7).

A los 132 días de emergencia el tratamiento T4, resultó superior ( $p \leq 0,05$ ) al resto de los tratamientos en todas las variables. Los tratamientos con fertilización orgánica e inorgánica resultaron superiores en el número de tallos. Las diferencias se presentan en la altura y producción de materia seca donde el tratamiento T2 resultó el menor (tabla 8).

En cuanto a altura, el tratamiento T4, resultó el de mejor desarrollo ( $p < 0,05$ ) durante todo el ciclo del cultivo seguido de los tratamientos T3, T5 y T1 resultando menor el tratamiento T2 por debajo del testigo.

**Tabla 7.** Caracteres agronómicos a los 110 días de emergencia.

**Table 7.** Agronomic characters after 110 days of emergency.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Altura cm	77,23 b	68,25 c	87,08 a	89,40 a	85,32 a	72,67 bc
Nº de plantas	16,89 a	18,22 a	20,11 a	20,56 a	19,22 a	20,78 a
Nº de tallos	41,78 b	44,78 b	73,22 a	69,33 a	75,33 a	44,89 b
H/T	3,57 a	3,33 a	3,63 a	3,50 a	3,43 a	3,47 a
Longitud foliar cm	45,40 ab	38,43 b	44,38 ab	48,60 a	44,78 ab	42,05 ab
M.S. g t <sup>-1</sup>	3,31 ab	2,12 c	2,93 abc	3,76 a	2,95 abc	2,37 bc

H/T = número de hojas en tallo; M.S. = materia seca; T1 = humus de lombriz; T2 = ácidos húmicos; T3 = urea; T4 = humus de lombriz + urea; T5 = ácidos húmicos + urea; T6 = testigo. Medias con la misma letra dentro de filas no difieren estadísticamente ( $p > 0,05$ ).

H/T = number of leaves in stem; DM = Dry matter; T1 = Earthworm humus; T2 = humic acids; T3 = urea; T4 = Earthworm humus + urea; T5 = humic acids + urea; T6 = control.  
Means with the same literal within rows do not differ statistically ( $p > 0.05$ ).

**Tabla 8.** Características agronómicas a los 132 días de emergencia.

**Table 8.** Agronomic characters after 132 days of emergency.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Altura cm	81,45 b	68,37 d	86,03 b	93,43 a	85,97 b	75,27 c
Nº de plantas	17,11 a	19,00 a	20,22 a	20,89 a	20,11 a	20,33 a
Nº de tallos	39,11 c	42,33 c	69,56 a	68,11 a	64,78 ab	44,22 bc
H/T	2,07 a	1,67 a	2,45 a	2,27 a	1,93 a	1,63 a
Longitud foliar cm	23,33 a	18,77 a	25,93 a	24,65 a	21,47 a	18,68 a
M.S. g tallo <sup>-1</sup>	3,39 a	2,43 b	3,33 ab	3,38 a	3,05 ab	3,00 ab

H/T = número de hojas en tallo; M.S. = materia seca; T1 = humus de Lombriz; T2 = ácidos húmicos; T3 = urea; T4 = humus de lombriz + urea; T5 = ácidos húmicos + urea; T6 = testigo. Medias con la misma letra dentro de filas no difieren estadísticamente ( $p > 0,05$ ).

H/T = number of leaves in stem; DM = Dry matter; T1 = Earthworm humus; T2 = humic acids; T3 = urea; T4 = Earthworm humus + urea; T5 = humic acids + urea; T6 = control.  
Means with the same literal within rows do not differ statistically ( $p > 0.05$ ).

En el diámetro de tallo el tratamiento de T4, resultó con el mayor valor ( $p \leq 0,05$ ) durante todo el ciclo del cultivo seguido de los tratamientos T3, T5 y T1 resultando menor el tratamiento T2 por debajo del testigo.

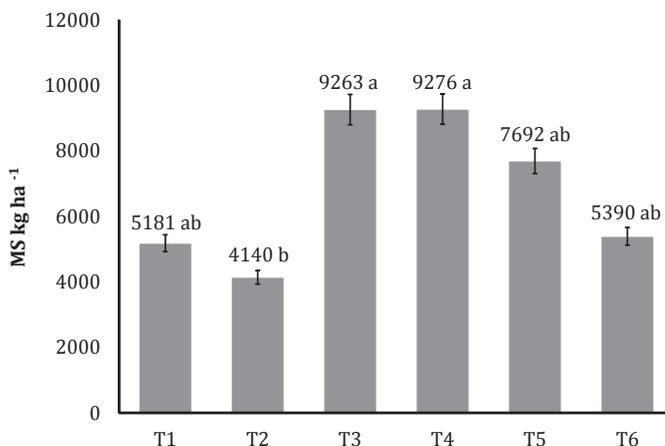
Para la longitud de espiga el tratamiento de T4, resultó el mayor valor ( $p \leq 0,05$ ) durante todo el ciclo del cultivo junto a los tratamientos con T3 y T5. La longitud de espiga a cosecha el T1 resultó sin diferencias con los tratamientos T3, T4 y T5, los menores tratamientos fueron T2 y T6.

En la producción de grano la mayor ( $p \leq 0,05$ ) fue alcanzada con T3 = 4,2 t ha<sup>-1</sup> y la menor en el tratamiento T2 = 2,1 t ha<sup>-1</sup>, el resto de los tratamientos resultó sin diferencias significativas.

El peso de 100 semillas resultó ( $p > 0,05$ ) sin diferencias en la totalidad de los tratamientos, lo cual difiere de los estudios de Li, *et al.* (2015) lo cual se puede deber a las condiciones ambientales y a la calidad del suelo en la cantidad de nutrientes disponibles para el cultivo.

Las variables agronómicas que aportan a la mayor producción de materia seca son: el número de tallos, altura, longitud de espiga y diámetro de tallos, donde los tratamientos con fertilización orgánica e inorgánica durante todo el ciclo del cultivo presentaron diferencias ( $p < 0,05$ ) con respecto a los tratamientos con fertilización orgánica y el testigo, logrando con ello alcanzar los mejores rendimientos por hectárea 9,27; 9,26 y 7,69 t ha<sup>-1</sup> (figura 1).

Respecto de las propiedades bromatológicas, no hubo diferencias ( $p \leq 0,05$ ), para cenizas resultó en 4,7%; el contenido de FDN 27,5%; FDA 15,7% y 9,8% PC., esto se debe a que la fertilización inorgánica influye en la densidad, diámetro y peso de tallos, altura y longitud de espiga, variables agronómicas que intervienen en la producción del cultivo (figura 1) sin afectar las propiedades bromatológicas.



M. S. = materia seca; T1 = humus de lombriz; T2 = ácidos húmicos; T3 = urea; T4 = humus de lombriz + urea; T5 = ácidos húmicos + urea; T6 = testigo.

DM = Dry matter; T1 = Earthworm humus; T2 = humic acids; T3 = urea; T4 = Earthworm humus + urea; T5 = humic acids + urea; T6 = control.

**Figura 1.** Producción total promedio de M.S. (kg ha<sup>-1</sup>) por tratamiento.

**Figure 1.** Total D. M. yield (kg ha<sup>-1</sup>) by treatment.

Los resultados obtenidos difieren de los estudios de Fortis *et al.* (2009) y Saucedo Castillo *et al.* (2015), quienes concluyen que se alcanzan rendimientos sin diferencias significativas entre la fertilización orgánica e inorgánica.

Sin embargo, coincide con los trabajos de Thirunavukkarasu y Vinoth (2013); Sharma y Banik (2014), donde alcanzan la mayor producción con fertilización orgánica e inorgánica (7).

Los resultados del presente estudio promueven el aprovechamiento y tratamiento de los residuos sólidos orgánicos pecuarios a través del proceso del vermicompost, minimizando el impacto actual por la excreción de nutrientes al ambiente.

## CONCLUSIONES

Los mayores resultados de producción indican que la combinación de la fertilización orgánica e inorgánica fue mejor que los demás tratamientos.

La producción de triticale en los tratamientos con urea alcanzaron una producción hasta un 70% superior al testigo y a los tratamientos únicamente con abonos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Alanis-Ruiz, J.; Crosby-Galvan, M.; Figueroa-Velasco, J.; Garcia-Bojalil, C.; Lee-Hernandez, J.; Mendoza-Martinez, G. 2000. Manual de laboratorio de nutrición animal. Colegio de Postgraduados, México. 8 p.
2. Alvarez-Fuentes, G.; Appuhamy, J. A. D. R. N.; Kebreab, E. 2016. Prediction of phosphorus output in manure and milk by lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 99: 771-782. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030215007973>.
3. AOAC (Association of Official Analytical Chemists): 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 13th Edition. Published by the Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. 20044, USA. 1018 p.
4. Atiyeh, R. M.; Dominguez, J.; Subler, S.; Edwards, C. A. 2000. Changes in biochemical properties of cow manure during processing by earthworms (*Eisenia andrei*, Bouché) and the effects on seedling growth. *Pedobiologia.* 709-724.
5. Atiyeh, R. M.; Lee, S., Edwards, C. A., Arancon, N. Q., & Metzger, J. D. 2002. The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. *Bioresource technology*, 7-14.
6. Bernal, M. P.; Albuquerque, J. A.; Moral, R. 2009. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assesment. A review. *Bioresource Technology.* 5444-5453.
7. Dominguez, J.; Lazcano, C.; Gómez Brandon, M. 2010. Influencia del vermicompost en el crecimiento de las plantas. aportes para la elaboración de un concepto objetivo. *Parasitology.* 359-371.
8. Fedna. (Fundación española para el desarrollo de la nutrición animal). Disponible en: <http://www.fundacionfedna.org>. Recuperado el 15 de septiembre de 2014.
9. Fortis-Hernández, M.; Leos-Rodríguez, J. A.; Preciado-Rangel, P.; Castillo, I. O.; García-Salazar, J. A.; García-Hernández, J. L. 2009. Forrajero con riego por goteo. Application of Organic Fertilizers in the Production of Forage Corn with Drip Irrigation. 329-336.
10. Gutiérrez Miceli, F. A.; Garcia Gomez, R. C.; Rincón, R. R.; Abud, A. M.; Oliva Llaven, M. A.; Guillen Cruz, M. J. 2008. Formulation of a liquid fertilizer for sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) using vermicompost leachate. *Bioresource Technology.* 6174-6180.

11. Gutiérrez Miceli, F. A.; Moguel, Z. B.; Abud, A. M.; Gutiérrez Oliva, V. F.; Dendooven, L. 2008. Sheep manure vermicompost supplemented with a native diazotrophic bacteria and mycorrhizas for maize cultivation. *Bioresource technology*. 7020-7026.
12. Li Gousheng, Hua Heliang, Kong Youbing, T. Y. 2015. Effects of vermicompost leach liquor on yield and quality of wheat. *Agric. Sci. Technol.* 16: 2703-2706.
13. Moral, R.; Paredes, C.; Bustamante, M. A.; Marhuenda-Egea, F.; Bernal, M. P. 2009. Utilisation of manure composts by high-value crops: Safety and environmental challenges. *Bioresource Technology*. 5454-5460.
14. Nefir, P.; Tabara, V. 2012. Research on the relationship variety fertilization on production of triticale (*Triticum secale* Wittmack) under the racasdia. *Journal of Agricultural Science*. 121-124.
15. Roberts, P.; Edwards-Jones, G.; Jones, D. L. 2007. Yield responses of wheat (*Triticum aestivum*) to vermicompost applications. *Compost science & Utilization*. 6-15.
16. Romero-Romano, C. O.; Ocampo-Mendoza, J.; Sandoval-Castro, E.; Tobar-Reyes, J. R. 2012. Fertilización orgánica - Mineral y orgánica en el cultivo de fresa (*Fragaria x ananasa* Duch.) Bajo condiciones de invernadero. *Ra Ximhai* 8: 41-49.
17. SAS Institute, Inc: 1999. SAS User's Guide. Statistics, Statistical Version 9. Cary, North Carolina. 956 p.
18. Saucedo Castillo, O.; de Mello Prado, R.; Castellanos González, L.; Ely, N.; Silva Campos, C. N.; Pereira Da Silva, G.; Assis, L. C. 2015. Efecto de la fertilización fosfatada con cachaza sobre la actividad microbiana del suelo y la absorción de fósforo en caña de azúcar (*Saccharum* spp.). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina*. 47(1): 33-42.
19. Sharma, R.C., Banik, P. 2014. Vermicompost and fertilizer application: Effect on productivity and profitability of baby corn (*Zea Mays* L.) and soil health. *Compost Science & Utilization* 22: 83-92.
20. Steel, G. R.; Torrie, J. H.; Dickey, D. A. 1997. Principles and procedures of statistics a biometrical approach. 3da. Edición. Ed. McGraw-Hill. México. D. F. 666 p
21. Thirunavukkarasu, M.; Vinoth, R. 2013. Influence of vermicomposting application along with Nitrogen on growth, nutrients uptake, yield attributes and economics of rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Agriculture, Environment Biotechnology*. 599-604.
22. Van Horn, H. H.; Wilkie, A. C.; Powers, W. J.; Nordstedt, R. A. 1994. Components of Dairy Manure Management Systems. *J Dairy Sci*. 2008-2030.
23. Van Soest, P.J.; Robertson, J. B.; and Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy. Sci.* 74:3583-3597.
24. Vennila, C.; Jayanathi, C.; Sankaran, V. M. 2012. Vermicompost on Crop Production - a Review. *Agric. Res. Commun. Cent.* 33: 265-270.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo otorgado para la realización de esta investigación.

Al Ing. José Antonio Lorca e Ing. Ramón Burgaña por todo su apoyo.

## The stability of various community types in sand dune ecosystems of northeastern China

### Estabilidad de varios tipos de comunidad en ecosistemas de dunas en el noreste de China

Yi Tang<sup>1</sup>, Xiaolan Li<sup>2</sup>, Jinhua Wu<sup>1</sup>, Carlos Alberto Busso<sup>3\*</sup>

Originales: *Recepción*: 02/11/2015 - *Aceptación*: 31/10/2016

#### ABSTRACT

The stability of artificial, sand-binding communities has not yet fully studied. A similarity index was developed to evaluate the stability of artificial communities in shifting and semi-fixed sand dunes. This similarity index consisted of 8 indicators (*i.e.*, vegetation cover, Shannon-Wiener Index, biomass, organic matter, Total N, available P and K, and sand particle ratio). The relative weight of these indicators was obtained using an analytic hierarchy process (AHP) method. Stability was compared on *Artemisia halodendron* Turczaninow ex Besser, Bull communities in shifting and semi-fixed sand dunes, and of *Caragana microphylla* Lam. communities with different planting ages. The similarity indexes of the *A. halodendron* communities were 0.24 and 0.54 in shifting and semi-fixed sand dunes, respectively. The peak stability of *C. microphylla* communities was 0.55, and it was reached when these communities were 20-year-old. It is suggested that *A. halodendron* communities should be planted preferentially in semi-fixed to moving sand dunes. Furthermore, the planting age of artificial communities should be included in planting programs. This study improved the understanding of some mechanisms contributing to maintain community stability, and is critical for guiding the artificial planting in sand dunes.

#### Keywords

*Artemisia halodendron* • analytic hierarchy process • *Caragana microphylla* • sand dunes • stability indicators

- 
- 1 School of Life Science, Liaoning University, No. 66 Chongshan Road, Shenyang (C.P. 110036), Liaoning Province, China.
  - 2 School of Life Science, Chifeng University, No. 1 Yingbin Road. Chifeng (C. P. 024000), Province of Inner Mongolia Autonomous Region, China.
  - 3\* Departamento de Agronomía and CERZOS (Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida de CONICET) (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas) de la República Argentina, San Andrés 800, Bahía Blanca (C. P. 8000), Buenos Aires, Argentina. carlosbusso1@gmail.com, cebusso@criba.edu.ar

## RESUMEN

La estabilidad de comunidades artificiales que contribuyen a la fijación de suelos arenosos no se ha estudiado completamente. Se desarrolló un índice de similitud para evaluar la estabilidad de comunidades artificiales en dunas móviles y fijadas medianamente. Este índice de similitud consistió de 8 indicadores (cobertura vegetal, índice de Shannon-Wiener, biomasa, materia orgánica, N total, P y K disponibles, y relación de partículas de arena). La importancia relativa de estos indicadores se obtuvo utilizando un método de procesamiento jerárquico analítico (AHP). Se comparó la estabilidad de comunidades de *Artemisia halodendron* Turczaninow ex Besser, Bull en dunas móviles y fijadas medianamente, y la de comunidades de *Caragana microphylla* Lam. de diferentes edades de plantación. Los índices de similitud de las comunidades de *A. halodendron* fueron 0,24 y 0,54 en dunas móviles y fijadas medianamente, respectivamente. La estabilidad máxima de las comunidades de *C. microphylla* fue 0,55, la que se obtuvo cuando dichas comunidades alcanzaron 20 años de edad. Se sugiere que las comunidades de *A. halodendron* se deberían plantar preferencialmente en dunas fijadas medianamente a móviles. Además, la edad de plantación de las comunidades artificiales se debería incluir en programas de plantación. Este estudio mejoró el entendimiento de algunos mecanismos que contribuyen a mantener la estabilidad de las comunidades, y es crítico para guiar la plantación artificial en áreas de dunas.

### Palabras clave

*Artemisia halodendron* • proceso analítico jerárquico • *Caragana microphylla* • dunas • indicadores de estabilidad

## INTRODUCTION

Since the 1950's, desertification has attracted the attention in China. A series of ecological engineering projects were initiated to control desertification in China, especially in Horqin Sandy Land, where desertification is a major constraint to achieve sustainable development (30). Ecological restoration achieved through ecological engineering projects is considered as a major useful way to deal with desertification (15).

Establishment of artificial, sand-binding vegetation is one of the most effective techniques for ecological restoration in sand lands. After years of practice, approximately 1.21 million ha have been established of sand-binding vegetation

such as *Artemisia ordosica*, *Caragana intermedia*, and *Caragana microphylla*, in arid and semi-arid desert ecosystems (17).

The effects of artificial, sand-binding communities on ecological restoration have been long studied.

The presence of these communities can gradually (1) alter the spatial distribution of nutrients (2, 27), increase soil fertility (2, 29, 40), and affect water distribution (5, 51), resulting in changes of biodiversity and vegetation cover (57). In addition, artificial, sand-binding vegetation can effectively protect the topsoil from wind erosion and trap wind-blown materials from nearby areas (36).

Although several artificial communities (e.g., of *Artemisia halodendron*, *C. microphylla*, or *Salix gordejvii* Chang) are established for sand-binding in Horqin Sandy Land, they have different spatial distributions in these sand dunes (11).

*Artemisia halodendron* communities often appear in semi-fixed and shifting sand dunes, and disappear in fixed sand dunes. *Caragana microphylla* communities grow on semi-fixed and fixed sand dunes. *Salix gordejvii* communities mainly distribute in semi-fixed sand dunes (28).

Their different spatial distributions are due to their stabilities, whose core is their resistance and resilience in the sand dune positions. How to compare the stability of artificial communities is not yet clear.

Some empirical studies have documented stability in artificial, sand-binding communities (3). However, most previous studies are far from quantitatively comparing the stability in these artificial, sand-binding communities. This is because of two major reasons: (1) there is diversity in defining the concept of stability, and (2) the quantification of stability is far from reaching an agreement. According to an inventory, 163 definitions and 70 stability concepts have been reported (6).

The existing information of stability in some major communities is based on different definitions of that concept. For example, resilience ability has been used to assess vegetation stability in degraded grasslands in Horqin Sandy Land (49). In contrast to this, stability of *Mongolian pine* communities has been based on the assessment of survival rates, life span, and the ability to resist adverse circumstances (44).

Many variables are used to measure the stability, which represent an inconvenient at the time of comparing the

stability of various artificial, sand-binding communities in arid and semiarid desert ecosystems.

Succession theory can provide an effective way to measure and compare the stability of communities.

According to the classical succession theory, communities succeed to a climax community with an increase in stability, even in rangelands, where grazing pressure might disrupt the succession (37, 38). It is suggested that the climax community is the one with the highest stability within a series of successional stages (1).

It is considered that communities are stable when their stability is similar to that of the climax community. Taking the climax community as a reference, the similarity between this and other communities could work as an indicator for measuring stability. This can be achieved by comparing the similarity between artificial and the climax communities, which have the highest stability, to have a measure of the stability of artificial plant communities.

The similarity between artificial and climax communities could be described using a similarity index. The higher the similarity index, the higher the stability of the study plant community. The similarity index should contain indicators representing the structure of communities and the functioning of ecosystems (9).

The structure of plant communities is commonly reported in biodiversity, richness and vegetation cover studies (15, 32). Meanwhile, the functioning of ecosystems is often reported in terms of biomass, nutrient content and cycling, and energy flow (23, 33).

The vegetation succession process is consistent with the sand dune fixing process in Horqin Sandy Land (48). Semi-fixed sand dunes are a subsequent stage

from shifting sand dunes. Communities of *A. halodendron* appeared both in shifting and semi-fixed sand dunes (48). This led us to think that *A. halodendron* might have a higher stability in semi-fixed than in shifting sand dunes.

The dynamic of plant communities is an important aspect of the community succession process. Community succession, from a successional stage to the next one, accompanies the development of plant communities. For example, the community of *Artemisia intramongolica* changed in biomass and canopy when shifting sand dunes turned into semi-fixed and fixed sand dunes (20). This led us to think that stability might be greater in older than younger artificial, sand-binding communities.

Sparse elm (*Ulmus pumilia* L.) woodland is an original vegetation type in Horqin Sandy Land, one of the four biggest sand lands in China (31). This woodland, as a climax community, is a reference to evaluate stability of artificial plant communities. It plays a major role in reducing wind erosion, accelerating vegetation restoration, and increasing nutrient accumulation (12).

The results of this study are helpful for (1) elucidating stability-maintaining mechanisms, and (2) guiding artificial planting in sand dunes.

### Objectives

- To determine the stability of *A. halodendron* in semi-fixed and shifting sand dunes.
- To evaluate the stability of artificial, sand-binding communities of various ages.
- To develop an integrated index to evaluate the stability of various artificial communities at a given time.

## MATERIALS AND METHODS

### Study site

The study was mainly conducted in Naiman county (42°15' N, 120°42' E, 345 m a. s. l.) and Balinyou Banner (43°12'-44°27' N, 118°12'-120°01' E, 1000 m a. s. l.).

Naiman is located in the hinterland of the Horqin Sandy Land, which has a continental semi-arid monsoon climate, and it is in the temperate zone. The mean annual precipitation is 364 mm, while the mean annual potential evaporation is 1920 mm (53).

Balinyou Banner is located in western Horqin Sand Land. Average annual temperature is 4.9°C. The mean annual precipitation is 358 mm (43).

The landscape in these two regions is characterized by dunes alternating with lowland areas. The original vegetation is sparse elm woodland at the two study sites. The current vegetation is dominated by shrubs and herbs, such as *Salix gordejewii*, *Artemisia halodendron*, *Aristida adscensionis*, *Agriophyllum squarrosum* and *Setaria viridis* (5, 52).

### Sampling procedures

The data used for calculation of stability index were obtained from the literature. It was made by searching journal articles and theses published before January 2014 using the Web of Science and www.cnki.net. The selection criteria were as follows: at least one of the study, target communities was measured; all the study, target variables were measured.

Study communities included sparse elm woodland, *A. halodendron*, *C. microphylla* or *S. gordejewii* communities. Main species in these communities are shown in table 1 (page 109).

**Table 1.** Major species composition of the *Artemisia halodendron*, *Caragana microphylla*, *Salix gordejvii*, and Sparse elm woodland communities.

**Tabla 1.** Principales especies de las comunidades de *Artemisia halodendron*, *Caragana microphylla*, *Salix gordejvii* y *Ulmus pumila*.

Communities	Species composition	Reference
<i>A. halodendron</i>	<i>Bassia dasyphylla</i> , <i>Corispermum elongatum</i> , <i>Cynanchum thesioides</i> , <i>Setaria viridis</i>	Yin <i>et al.</i> , 2006
<i>C. microphylla</i>	<i>Corispermum elongatum</i> , <i>Eragrostis pilosa</i> , <i>Salsola ruhtenica</i> , <i>Setaria viridis</i>	He, <i>et al.</i> , 2013
<i>S. gordejvii</i>	<i>Astragalus adsurgens</i> , <i>Corispermum elongatum</i> , <i>Cynanchum thesioides</i> , <i>Inula salsoloides</i> , <i>Pennisetum centrasiatricum</i> , <i>Setaria viridis</i>	Li <i>et al.</i> , 2000
Sparse elm woodland	<i>Bassia dasyphylla</i> , <i>Chloris virgata</i> , <i>Cleistogenes squarrosa</i> , <i>Corispermum elongatum</i> , <i>Eragrostis pilosa</i> , <i>Lespedeza davurica</i> , <i>Pennisetum centrasiatricum</i> , <i>Salsola collina</i> , <i>Setaria viridis</i>	Zuo <i>et al.</i> , 2005

The study variables were vegetation cover (%), biodiversity (Shannon-Wiener Index), biomass ( $\text{g m}^{-2}$ ), soil organic matter (%) and nutrient contents [Total N ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), available P ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), available K ( $\text{mg kg}^{-1}$ )], and sand particle ratio [*i.e.*,  $\text{sand}/(\text{sand}+\text{silt}+\text{clay}) \times 100$ , %]. The sand dunes types (*i.e.*, fixed dunes, semi-fixed dunes and shifting dunes), where communities were located, were recorded. Time when communities were planted was recorded whenever it was reported. To avoid the effects of spatial heterogeneity in soil nutrient contents (56), we used a relative soil nutrient content as the indicator of soil nutrients in artificial communities (*i.e.*, the ratio of content of soil nutrients in the study communities and their adjacent regions, %). This is, soil nutrient content data were also recorded from the adjacent regions.

The final data included information from 8 theses and papers (4, 10, 16, 34, 41, 42, 45, 46). A data thief software GetData Graph Digitizer was used to extract data from figures of the selected literature (35).

In this study, the calculation process used to obtain the relative weight of the indicator variables followed that of Zhang *et al.* (2013).

The Analytic Hierarchy Process (AHP) methodology is an effective decision-making tool to deal with complex and multi-factor problems (14).

The AHP procedure includes three basic steps: (1) design of the decision hierarchy, (2) pairwise comparison of elements of the hierarchical structure, and (3) construction of an overall priority rating. This AHP was used to estimate the relative weight of indicator variables, which reflected the structure of plant communities and the functioning of ecosystems. Structure indicators were vegetation cover, and the Shannon-Wiener Index. Functioning indicators were biomass, organic matter, Total N, available P, available K, and the sand particle ratio. After establishing the hierarchical structure (*i.e.*, the study structure and functioning aspects), pairwise comparisons of indicators were judged,

and its consistency was tested with the consistency ratio (CR). Finally, the relative weight of indicators was calculated.

The Similarity Index (SI) was calculated following equation (1), where  $W_i$  represented the relative weight of indicator  $i$  with respect to the total number of indicators ( $n$ ). In this equation,  $SI_i$  represented the similarity in the indicators, and it was calculated following equation (2) or (3).

$$SI = \sum_{i=1}^n SI_i \times W_i \quad (1)$$

$$SI_i = \frac{\text{Var}_{ic}}{\text{Var}_{ij}}, \text{Var}_{ij} > \text{Var}_{ic} \quad (2)$$

$$SI_i = \frac{\text{Var}_{ij}}{\text{Var}_{ic}}, \text{Var}_{ij} \leq \text{Var}_{ic} \quad (3)$$

In equations (2) and (3),  $\text{Var}_{ic}$  means the value of an  $i$  indicator (*i.e.*, variable=Var) on the  $c$  community (*i.e.*, climax community, which is sparse elm woodland in this paper).  $\text{Var}_{ij}$  represents the indicator of the current, study communities: it means the value of indicator  $i$  in community  $j$  ( $j$ : communities were of *A. halodendron*, *C. microphylla* or *S. gordejvii*).

In equations (1), (2) and (3)  $i$  means the  $i$  change from 1 to  $n$  ( $n=8$ ), as 8 indicators were used here (*i.e.*, vegetation cover, biodiversity, biomass, organic matter, Total N, available P, available K, and the sand particle ratio).

When the value of indicator  $i$  in community  $j$  was larger than that in the climax community (*i.e.* sparse elm woodland), we used equation (2). When the value of indicator  $i$  in community  $j$  was less than or equal to that in the climax community, we used equation (3).

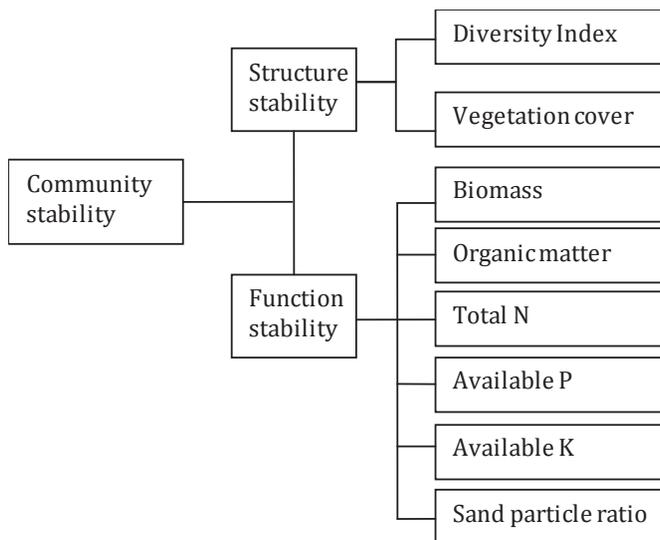
The SI changes in the range of 0 to 1 in equations (2) and (3). For example, let us assume that the value of the sand particle ratios in the *S. gordejvii*, *C. microphylla*, and sparse elm woodland communities were 95.21%, 90.02%, and 91.55%, respectively. We used equation (2) to calculate the SI of the sand particle ratio in the *S. gordejvii* community (0.9155/0.9521), and equation (3) to calculate the SI of the *C. microphylla* community (0.9002/0.9155).

The SI was compared among seven communities which differed in species composition, age from planting, and stage of sand dune fixation: (1) *A. halodendron* community in shifting sand dunes; (2) *A. halodendron* community in semi-fixed sand dunes; (3) 6-year-old *C. microphylla* community in semi-fixed sand dunes; (4) 14-year-old *C. microphylla* community in semi-fixed sand dunes; (5) 20-year-old *C. microphylla* community in semi-fixed sand dunes; (6) 27-year-old *C. microphylla* community in semi-fixed sand dunes; (7) sparse elm woodland community in fixed sand dunes.

## RESULTS

### Relative weights of indicator variables

According to the hierarchy for assessment of the stability of artificial communities (figure 1, page 111), three comparison matrixes were developed (CR=0.0000<0.10). Since the obtained CR < 0.10, a reasonable level of consistency was achieved in the pair-wise comparisons made.



**Figure 1.** A hierarchy for evaluating the stability of artificial plant communities.

**Figura 1.** Diagrama de la jerarquía para evaluar la estabilidad de comunidades vegetales artificiales.

Table 2 clearly shows the relative contribution of each indicator variable to the total weight (*i.e.*, 1) of all indicators. It is clear that almost 75% of the contribution to the total weight of all indicators was achieved by plant-related variables.

**Table 2.** Relative weight of each indicator variable for evaluating stability of artificial plant communities.

**Tabla 2.** Importancia relativa de cada variable (indicador) para evaluar la estabilidad de comunidades vegetales artificiales.

Indicators	Weight
Diversity index	0.3750
Vegetation Cover	0.1250
Biomass	0.2405
Organic matter	0.1262
Total N	0.0343
Available P	0.0229
Available K	0.0255
Sand particle ratio	0.0506

Because of the lack of agreement between the number of communities (4) and the types of communities (7), species in each community (table 1, page 109), and the lack of mention on where each type of data was obtained from, table 3 (page 112), was included with the information on the sources of the used data.

### Similarity Index

Anytime we refer to higher than, lower than, etc. in the following paragraph, it refers in terms of absolute values. This is because the values were obtained from the available literature and as a result they were not exposed to any statistical analysis.

**Table 3.** Community types and positions with their indicator variables are shown from previous research.

**Tabla 3.** Tipos y ubicación de diferentes comunidades con sus variables indicadoras se muestran de investigaciones previas.

Reference Number	References	Community types	Community positions	Indicator variables
17	Li, 2003	Sparse elm woodland	fixed-sand dunes	Diversity index, vegetation cover, biomass, sand particle ratio
44	Zhang, 2004	Sparse elm woodland	fixed-sand dunes	Organic matter, total N, available P, available K

41	Yin, 2006	<i>A. halodendron</i>	shifting-and semi fixed-sand dunes	Diversity index, vegetation cover, Biomass
33	Wang, 2006	<i>A. halodendron</i>	shifting-and semi fixed-sand dunes	Organic matter, total N, available P
4	Cao, 2007	<i>A. halodendron</i>	shifting-and semi fixed-sand dunes	Available K

45	Zhang, 2004	<i>A. halodendron</i>	shifting-and semi fixed-sand dunes	Sand particle ratio
11	Jiang, 1982	<i>C. microphylla</i>	all community ages mentioned in this study	Biomass
40	Yang, 2010	<i>C. microphylla</i>	all community ages mentioned in this study	Diversity index, vegetation cover, organic matter, total N, available P, available K, sand particle ratio

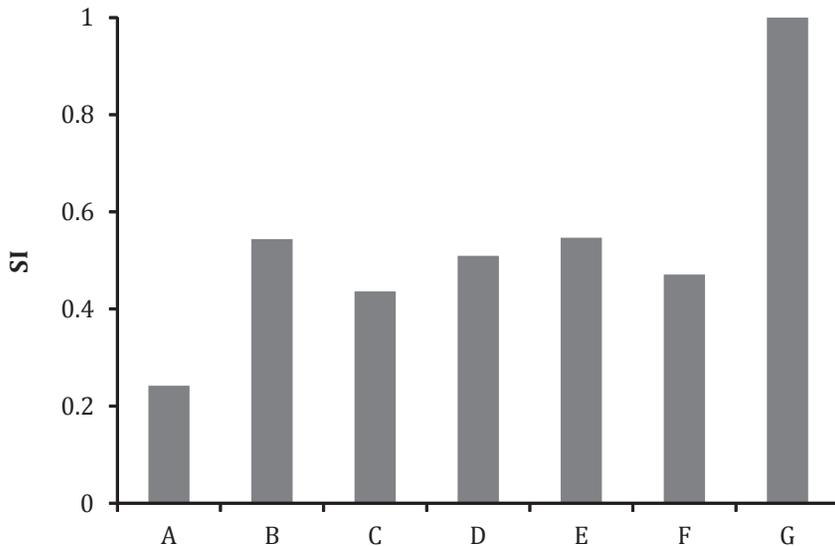
The similarity index of the *A. halodendron* community in semi-fixed sand dunes was 0.54, which was higher than that in shifting sand dunes (figure 2, page 113).

In semi-fixed sand dunes, the 20-year-old *C. microphylla* community showed the highest similarity index (figure 2, page 113).

In general, the older the community, the higher the SI on the *C. microphylla* community located in semi-fixed sand dunes (figure 2, page 113).

The only exception was on the 27-year-old *C. microphylla* community on semi-fixed sand dunes, where the SI was lower than that on 14- and 20-year-old communities of this species on the same sand dune type.

The highest SI among all seven study communities was reached by the sparse elm woodland community on fixed sand dunes (figure 2, page 113).



**Figure 2.** The Similarity Index (SI) of the *A. halodendron* and *C. microphylla* communities in shifting-, semi-fixed-, and fixed-sand dunes. Communities were: A: *A. halodendron*; B: *A. halodendron*; C: 6-year-old *C. microphylla*; D: 14-year-old *C. microphylla*; E: 20-year-old *C. microphylla*; F: 27-year-old *C. microphylla*; G: Sparse elm woodland. These communities were located in A: shifting sand dunes; B to F: semi-fixed sand dunes; G: fixed sand dunes.

**Figura 2.** Índice de similitud (SI) en las comunidades de *A. halodendron* y *C. microphylla* en dunas móviles, o fijadas en forma moderada o total. Las comunidades fueron: A: *A. halodendron*; B: *A. halodendron*; C: *C. microphylla* de 6 años de edad; D: *C. microphylla* de 14 años de edad; E: *C. microphylla* de 20 años de edad; F: *C. microphylla* de 27 años de edad; G: Arbustal de *Ulmus pumila* esparcido. Estas comunidades estaban ubicadas en A = dunas móviles; B a F: dunas fijadas en forma moderada; G: dunas fijadas totalmente.

## DISCUSSION

It was found that the weight of plant indicators to the total weight of all variables related with stability was greater than that of soil variables. Other studies have reported that sand dunes become stable when perennial plants colonize them (21).

This results showed that the similarity index of the *A. halodendron* community was greater in the semi-fixed than in shifting sand dunes. This is consistent with previous studies (26), and supports our hypothesis that *A. halodendron* in semi-fixed sand dunes has a higher stability than that community in moving sand dunes.

This findings also agree with those of Li *et al.* (2007) who reported that *A. halodendron* and *Agriophyllum squarrosum* were the dominant species in semi-fixed and shifting sand dunes, respectively.

The diversity index and vegetation cover were among the most important indicators for contributing to explain the stability of the study plant communities. These indicators imply at the same time an increasing need of water supply (23). These results suggest that semi-fixed sand dunes should be more suitable for drought resistant species. Main or fine roots allow water uptake from deep or surface soil layers, respectively, in *A. halodendron* which increases its water use efficiency and resistance to drought (47).

Although some population characteristics of *A. halodendron* might decrease in semi-fixed sand dunes (*i.e.*, single body biomass, canopy and height: 28), community stability increased. This increase might be due to (1): the increases in species diversity and vegetation cover, proportion of clay and silt particles, and soil nutrients, and (2) regulation of the soil pH values (48). Therefore, *A. halodendron* communities are suitable for restoring vegetation and binding sand in moving sand dunes, especially in semi-fixed sand dunes.

The stability of the *C. microphylla* community, as measured by the SI, increased until it was 20-year-old, and decreased afterwards. This partly supports our hypothesis that stability should be higher in older than younger artificial, sand-binding communities. *Caragana microphylla* can decrease wind velocity through its branches, which contributes to improve the accumulation of clay and silt particles in its canopy (7).

Previous studies have reported that the proportion of clay and silt particles is 2.6% before planting *C. microphylla* (30).

This proportion, however, reached 14.4% in the canopy of *C. microphylla* after 21 years from planting (29).

The increase in the proportion of clay and silt particles promotes the accumulation of soil organic matter, nutrients and water holding capacity (39).

In addition, herbs in the *C. microphylla* community also promote the cycling of organic matter and soil nutrients (22). Therefore, the stability of the *C. microphylla* community increased with age from its initial establishment.

However, the similarity index was lower on 27- than on 20-year-old *C. microphylla* communities, indicating that the stability of these communities decreased after reaching a peak. Pfisterer and Schmid (2002), reported an inverse relationship between biodiversity and the stability of ecosystem functioning. This suggests that the community of *C. microphylla* might have increased in biodiversity after 27-year-old.

Also, Anward Maun (2009) reported that as the plant community develops from open sand dunes to more mature stages in the succession process, there is in general an increase in weathering of soil and an increase in silt and clay, and in the humus content. For example, Holmes (2001) reported that primary succession occurs in essentially lifeless areas - places in which the soil is incapable of sustaining life such as newly formed sand dunes. Secondary succession occurs in areas where an ecosystem that previously existed has been removed. This type of succession is typified by smaller-scale disturbances that do not eliminate all life and nutrients from the environment. Primary and secondary succession both create a continually changing mix of species within communities as disturbances of different intensities, sizes, and frequencies alter the landscape.

The sequential progression of species during succession, however, is not random. At every stage, certain species have evolved life histories to exploit the particular conditions of the community (niches). This situation imposes a partially predictable sequence of change in the species composition of communities during succession.

Figure 2 (page 113), helps identify the process of succession in a sand dune system. Initially only a small number of species from surrounding habitats are capable of thriving in a disturbed habitat and harsh environment.

As new plant species take hold, they modify the habitat by altering such things as the mineral composition of the soil. These changes allow other species that are better suited to this modified habitat to succeed the old species. These newer species are superseded, in turn, by still newer species. As succession is a slow process (and change in soil and vegetation often takes many tens or hundreds of years at any one location), zonation (*i.e.*, the variation of species or communities over a particular area) is often used in sand dune studies to show how successions can work. This assumption is simply based on the fact that the dunes nearest the sea or coast are young and they become progressively older as the distance increases inland (8).

Petersen *et al.* (1968) reported that soil available moisture was negatively correlated with increasing clay content in soils. Then, less water might be available for root uptake in the *C. microphylla* community. Therefore, the stability of the oldest *C. microphylla* community in this study might have decreased because of a lower soil water availability for plant growth.

According to this results, the match between artificial communities and their location in sand dunes should be considered

carefully. *Artemisia halodendron* communities should be planted preferentially in semi-fixed to moving sand dunes.

Furthermore, the planting age of artificial communities should be included in a planting program. For example, the greatest stability of *C. microphylla* communities appeared when they were 20-year-old. Additional artificial measures should be imposed to the elder *C. microphylla* community to maintain its stability.

The AHP method has already been used in evaluating the stability of wetland ecosystems, and in assessing the effects of protective systems in desert ecosystems (50, 54). In this study, this method was used to evaluate the stability of artificial communities.

The AHP method is suitable for situations where both quantitative and qualitative analyses are needed.

The accurateness of this method mainly depends on the correction of the weight estimations. We collected and synthesized data from the literature to evaluate the stability of communities in sandy lands.

This study demonstrated the usefulness of collecting and appropriately analyzing and interpreting ecological data from the literature to address answers to ecological issues.

## CONCLUSIONS

The higher stability of *A. halodendron* communities was reached in semi-fixed than in shifting sand dunes. This was most likely due to increases in species diversity and vegetation cover, and the improvement in physicochemical soil properties.

Communities of *C. microphylla* reached a peak of stability when they were 20-year-old.

It suggests that *A. halodendron* communities should be planted preferentially in semi-fixed to moving sand dunes.

Furthermore, the planting age of artificial communities should be included

in planting programs. This study improved the understanding of the mechanisms contributing to maintain stability, and is helpful for guiding the artificial planting in desert ecosystems.

## REFERENCES

1. Anwar Maun, M. 2009. The biology of coastal sand dunes. Oxford Univ. Press, Oxford.
2. Burke, I. C.; Reiners, W. A.; Sturges, D. L. 1987. Herbicide treatment effects on properties of mountain dig sagebrush soils after fourteen years. *Soil Society of America Journal*. 51: 1337-1343.
3. Cao, C. Y.; Jiang, S. Y.; Ying, Z.; Zhang, F.; Han, X. 2011. Spatial variability of soil nutrients and microbiological properties after the establishment of leguminous shrub *Caragana microphylla* Lam. Plantation on sand dune in the Horqin sandy land of Northeast China. *Ecological Engineering*. 37: 1467-1475.
4. Cao, C. Y.; Jiang, D. M.; Luo, Y. M.; Kou, Z. W. 2004. Stability of *Caragana microphylla* plantation for wind protection and sand fixation. *Acta Oecologica Sinica*. 24: 1178-1186.
5. Cao, C. Y.; Zhu, L. H.; Jiang, D. M.; Fu, Y.; Gao, F. F. 2007. Effects of artificial Sand-fixation communities on soil nutrients and biological properties in Horqin Sandy Land. *Journal of Soil and Water Conservation*. 27: 168-171.
6. Grimm, V.; Wissel, C. 1997. Babel, or the ecological stability discussions: An inventory and analysis of terminology and a guide for avoiding confusion. *Oecologia*. 109: 323-334.
7. He, S. F.; Jiang, D. M.; Lamusa, A.; Liu, Z. M.; Luo, Y. M. 2007. Sand-fixing effects of *Caragana microphylla* shrub in Keerqin Sandy Land. *Journal of Soil and Water Conservation*. 21: 84-87.
8. Holmes, D. 2001. The geography of coastal sand dunes. *Geo Factsheet* 119. 5 p.
9. Huang, J. H.; Han, X. G. 1995. Biodiversity and ecosystem stability. *Chinese Biodiversity*. 3: 31-37.
10. Jiang, F. Q.; Lu, F. Y. 1982. The model of estimating above-ground biomass of *Caragana microphylla* Brush. *Acta Ecologica Sinica*. 2:103-110.
11. Jiang, D. M.; Liu, Z. M.; Cao, C. Y.; Kou, Z. W. 2003. Desertification and ecological restoration of Keerqin Sandy Land. China Environmental Science Press. Beijing.
12. Jiang, D. M.; Tang, Y.; Busso, C. A. 2014. Effects of vegetation cover on recruitment of *Ulmus pumila* L. in Horqin Sandy Land, northeastern China. *Journal of Arid Land*. 6: 343-351.
13. Judd, F. W.; Summy, K. R.; Lonard, R. I.; Mazariegos, R. 2008. Dune and vegetation stability at South Padre Island, Texas, United States of America. *Journal of Coastal Research*. 24: 992-998.
14. Kovacst, M. J.; Malczewski, J.; Flores-Verdugo, F. 2004. Examining local ecological knowledge of hurricane impacts in a mangrove forest using an analytical hierarchy process (AHP) approach. *Journal of Coastal Research*. 20: 792-800.
15. Le Houerou, H. N. L. 2002. Man-made deserts: desertification processes and threats. *Arid Land Research and Management*. 16: 1-36.
16. Li, H. L. 2003. Basic Studies on desertification process and vegetation restoration in Otindag Sandy Land - A case of Zhenglan Banner. Thesis. - Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University.
17. Li, X. R.; Xiao, H. L.; Zhang, J. G.; Wang, X. P. 2004. Long-term ecosystem effects of sand-binding vegetation in the Tengger Desert, northern China. *Restoration Ecology*. 12: 376-390.
18. Li, Y. L.; Meng, Q. T.; Zhao, X. Y.; Zhang, T. H. 2007. Characteristics of species composition and plant diversity in the process of vegetation restoration on moving dunes in the Kerqin Sandy Land. *Acta Prataculturae Sinica*. 16: 54-61.
19. Liang, Y.; Gao, Y. B.; Ren, A. Z.; Chen, S.P.; Liu, N.; Liu, S. 2000. Quantitative characteristics of *Salix gordejvii* population in different sandy land habitats. *Acta Ecologica Sinica*. 20:80-87.
20. Liu, H. M.; Piao, S. J.; Wang, L. X.; Liu, F.; Wen, Y.; Liu, S. G. 2005. Population characteristics of *Artemisia intramongolica* at different successional stages. *Chinese Journal of Ecology*. 24: 497-502.

21. Liu, B.; Liu, Z. M.; Wang, L. X. 2012. The colonization of active sand dunes by rhizomatous plants through vegetative propagation and its role in vegetation restoration. *Ecological Engineering*. 44:344-347. Available in: [http://hwb.wales.gov.uk/cms/hwbcontent/Shared%20Documents/VTC/env-sci/w24\\_id\\_sand.htm](http://hwb.wales.gov.uk/cms/hwbcontent/Shared%20Documents/VTC/env-sci/w24_id_sand.htm). Basic Ideas. Succession on sand dunes. Access date: 20 April 2014.
22. Mun, H. T.; Whitford, W. G. 1998. Changes in mass and chemistry of plant roots during long-term decomposition on a Chihuahuan Desert watershed. *Biology and Fertility of Soils*. 26: 16- 22.
23. Oswald, J. S.; Jonathan, H. G.; Barbara, L. P.; Evan, L. P.; Geoffrey, C. T.; James, R. V. 2008. From individuals to ecosystem function: Toward an integration of evolutionary and ecosystem ecology. *Ecology*. 89: 2436-2445.
24. Petersen, G. W.; Cunningham, R. L.; Matelski, R. P. 1968. Moisture characteristics of Pennsylvania soils: I. Soil moisture retention as related to texture. *Soil Science Society of America Journal*. 32: 271-275.
25. Pfisterer, A. B.; Schmid, B. 2002. Diversity dependent production can decrease the stability of ecosystem functioning. *Nature*. 416: 84-86.
26. Piao, S. J.; Wang, Z. J.; Yan, X. L.; Zhang, B. C.; Yin, H. 2006. Analysis of niche fitness of *Artemisia halodendron* population on Horqin Sandy Land. *Journal of Plant Ecology*. 30: 593-600.
27. Schlesinger, W. H.; Raikes, J. A.; Hartley, A. E.; Cross, A. E. 1996. On the spatial pattern of soil nutrients in desert ecosystem. *Ecology*. 77: 364-374.
28. Su, Y. Z.; Zhao, H. L.; Li, Y. L.; Cui, J. Y. 2004a. Influencing mechanisms of several shrubs on soil chemical properties in semiarid Horqin Sandy Land, China. *Arid Land Research and Management*. 18: 251-263.
29. Su, Y. Z.; Zhao, H. L.; Zhang, T. H.; Li, Y. L. 2004b. Characteristics of plant community and soil properties in the plantation chronosequence of *Caragana microphylla* in Horqin Sandy Land. *Acta Phytocologica Sinica*. 28: 93-100.
30. Su, Y. Z.; Zhao, W. Z.; Su, P. X.; Zhang, Z. H.; Wang, T.; Ram, R. 2007. Ecological effects of desertification control and desertified land reclamation in an oasis-desert ecotone in an arid region: A case study in Hexi Corridor, northwest China. *Ecological Engineering*. 29: 117-124.
31. Tang, Y.; Jiang, D. M.; Lv, X. T. 2014. Effects of Exclosure Management on Elm (*Ulmus pumila*) Recruitment in Horqin Sandy Land, Northeastern China. *Arid Land Research and Management*. 28: 109-117.
32. Thornes, J. B. 2005. Coupling erosion, vegetation and grazing. *Land Degradation and Development*. 16:127-38.
33. Tilman, D. 1996. Biodiversity: Population versus ecosystem stability. *Ecology*. 77: 350-363.
34. Wang, Z. J. 2006. Analysis of Habitat Fitness of *Artemisia halodendron* population in Horqin Sandy Land. Thesis. Inner Mongolia University, Hohhot.
35. Wang, Q. K.; Zhang, M. C.; Wang, S. L. 2012. A meta-analysis on the response of microbial biomass, dissolved organic matter, respiration, and N mineralization in mineral soil to fire in forest ecosystems. *Forest Ecology and Management*. 271: 91-97.
36. Wang, S. K.; Zhao, X. Y.; Qu, H.; Zuo, X. A.; Lian, J.; Tang, X.; Powers, R. 2011. Effects of shrub litter addition on dune soil microbial community in Horqin Sandy Land, northern China. *Arid Land Research and Management*. 25: 203-216.
37. Westoby, M. 1980. Elements of a theory of vegetation dynamics in arid rangeland. *Israel Journal of Botany*. 28:169-194.
39. Westoby, M.; Walker, B. Noy-Meir, I. 1989. Opportunistic management for rangeland not at equilibrium. *Journal of Range Management* 42(2): 266-274.
39. Wezel, A.; Rajot, J. L.; Herbrig, C. 2000. Influence of shrubs on soil characteristics and their function in Sahelian agro-ecosystems in semi-arid Niger. *Journal of Arid Environments*. 44: 383-398.
40. Xie, G. H.; Steinberger, Y. 2001. Temporal patterns of C and N under shrub canopy in a loessial soil desert ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*. 33: 1371-1379.

41. Yang, D. H. 2010. Study on the stability of plantation for wind protection and sand fixation in Horqin Sandy land. Thesis. Northeast Forestry University, Haerbin.
42. Yin, H.; Piao, S. J.; Wang, Z. J.; Yan, X. L.; Zhang, B. C.; Zhai, J. W.; Ding, Y. 2006. Ecological characteristics of *Artemisia halodendron* community and population on Horqin Sandy Land. Chinese Journal of Applied Ecology. 17: 1169-1173.
43. Yue, S. P.; Zhang, S. W.; Yan, Y. C. 2007. Temporal and Spatial Distribution of Grassland Degradation in Eastern Inner Mongolia: A Case Study in Balinyouqi. Resource Science. 29: 154-161.
44. Zeng, D. H.; Jiang, F. Q.; Fan, Z. P.; Zhu, J. J. 1996. Stability of Mongolian pine plantations on sandy land. Chinese Journal of Applied Ecology. 7: 337-343.
45. Zhang, H. X. 2004. Discussion on Ecological Benefits of *Ulmus pumila* L. Woodland in Hunshandake Sandy Land. Thesis. - Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot.
46. Zhang, H.; He, H.; Li, F. R.; Zhang, H. R. 2006. Study on ecological effects of several shrubs on sandy soils in Horqin Sandy Land. Geographical Research. 24: 709-716.
47. Zhang, J. Y.; Zhao, H. L.; Zhang, T. H.; Zhao, X. Y. 2004. Ecological characteristics of dominant species curing stabilization of mobile sand dunes. Bulletin of Soil and Water Conservation. 24: 1-4.
48. Zhang, J.; Zhao, H. L.; Zhang, T. H.; Zhao, X. Y.; Drake, S. 2005. Community succession along a chronosequence of vegetation restoration on sand dunes in Horqin Sandy Land. Journal of Arid Environments. 62: 555-566.
49. Zhang, J. Y.; Zhao, H. L. 2011. A case study on vegetation stability in sandy desertification land: determination and comparison of the resilience among communities after a short period of extremely aridity disturbance. Acta Ecologica Sinica. 31: 6060-6071.
50. Zhang, R. Q.; Zhang, X. D.; Yang, J. Y.; Yuan, H. 2013. Wetland ecosystem stability evaluation by using Analytical Hierarchy Process (AHP) approach in Yinchuan Plain, China. Mathematical and Computer Modeling. 57: 366-374.
51. Zhang, Y. F.; Wang, X. P.; Pan, Y. X.; Hu, R.; Zhang, H. 2013. Heterogeneity of soil surface temperature induced by xerophytic shrub in a revegetated desert ecosystem, northwestern China. Journal of Earth System Science. 122: 831-840.
52. Zhao, H. L.; Liu, R. T. 2013. The "bug island" effect of shrubs and its formation mechanism in Horqin Sand Land, Inner Mongolia. Catena. 105: 69-74.
53. Zhao, H. L.; Zhou, R. L.; Su, Y. Z.; Zhang, H.; Zhao, L. Y.; Drake, S. 2007. Shrub facilitation of desert land restoration in the Horqin Sand Land of Inner Mongolia. Ecological Engineering. 31: 1-8.
54. Zhou, Q. L.; Yang, H.; Jiang, D. M.; Lamusa, A.; Li, X. H.; Toshio, O. 2013. Effect evaluation of various protective systems in the Horqin Sand Land. Chinese Journal of Ecology. 32: 787-794.
55. Zuo, X. A.; Zhao, X. Y.; Zhang, H. T.; Yun, J. Y.; Huang, G. 2005. Species diversity and Arbor population distribution pattern of *Ulmus pumila* L. scattered grassland of Horqin Sand. Journal of Arid Land Resource and Environment. 19: 63-68.
56. Zuo, X. A.; Zhao, H. L.; Zhao, X. Y.; Zhang, T. H.; Guo, Y. R.; Wang, S. K.; Drake, S. 2008. Spatial pattern and heterogeneity of soil properties in sand dunes under grazing and restoration in Horqin Sandy Land, Northern China. Soil and Tillage Research. 99: 202-212.
57. Zuo, X. A.; Wang, S. K.; Zhao, X. Y.; Lian, J. 2014. Scale dependence of plant species richness and vegetation-environment relationship along a gradient of dune stabilization in Horqin Sandy Land, Northern China. Journal of Arid Land. 6: 334-342.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by National Basic Research Program of China (2013CB429905), the National Natural Science Foundation of China (41201052). Y. Tang thanks Prof. Hua Zhang and Associate Prof. Shanfeng He for data collection. C.A. Busso thanks (1) the sabbatical leave given by Universidad Nacional del Sur and the Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina (CONICET), (2) the Associateship awarded by the Third World Academy of Sciences (TWAS)-UNESCO, and (3) housing, facilities and financial support from the Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang, China.

## **Aplicación de técnicas de muestreo probabilístico para estimar la calidad del mosto de uvas tintas**

### **Sampling probabilistic vineyards of tint grapes to estimate the quality of the must**

Joaquín Llera <sup>1</sup>, Nora Martinengo <sup>1</sup>, Hugo Galiotti <sup>2</sup>

Originales: *Recepción:* 14/12/2015 - *Aceptación:* 09/06/2016

*Nota científica*

#### **RESUMEN**

El objetivo es definir un criterio de muestreo probabilístico para la obtención de unidades de muestreo y de análisis que permitan estimar los parámetros de la composición fisicoquímica de las uvas. Se aplican tres estrategias de muestreo: una es muestrear  $n$  plantas y cosechar todas sus uvas, y otras dos surgen de muestreos bietápicos para obtener muestras compuestas de 100 bayas y de 10 racimos. Para cada estrategia se determina su precisión y exactitud en las estimaciones del contenido azucarino, pH y acidez total, del mosto proveniente de la cosecha total de las parcelas muestreadas, los cuales fueron considerados los parámetros a estimar. La mayor exactitud se obtuvo con la estrategia de seleccionar en una primera etapa plantas, a través de un muestreo sistemático con arranque aleatorio, y posteriormente submuestrear 100 bayas con un procedimiento prefijado. El análisis de la varianza, fue significativo ( $p < 0,05$ ) al comparar los contenidos azucarinos y pH entre plantas. Al diseñar un plan de muestreo en viñedos para estimar la calidad enológica del futuro mosto a obtener y con el objeto de mejorar su eficiencia, es necesario elegir un método que sea abarcativo a la totalidad del mismo. Para disminuir el sesgo al estimar el contenido azucarino, se propone un factor de corrección de  $0,94^\circ$  Brix.

#### **Palabras clave**

muestreo • vid • mosto de uva • calidad • estimación

---

1 Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Dpto. de Biomatemática y Fisicoquímica. Alte Brown 500. C. P. M5528AHB. Chacras de Coria. Mendoza. Argentina. jllera@fca.uncu.edu.ar

2 Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Producción Agropecuaria.

## ABSTRACT

The aim is to define criteria for obtaining probability sampling unit sampling and analysis to estimate the parameters of the physico-chemical composition of grapes. Three sampling strategies are applied: one is to sample  $n$  plants and harvest all their grapes, and two others arise from two-stage sampling for 100 composite samples of 10 berries and grapes. For each strategy, precision and accuracy is determined estimates of sugar content, pH and total acidity of the juice from the total harvest of the sampled plots, which were considered the parameters to be estimated. The greatest accuracy was obtained with the strategy of selecting plants at an early stage, through systematic sampling with random start, and then subsample 100 berries with a predetermined procedure. The analysis of variance was significant ( $p < 0.05$ ) when comparing azucarinos content and pH between plants. When designing a sampling plan in vineyards to estimate the oenological quality of the future must obtain and in order to improve efficiency, it need to choose a method that is encompassing the whole of it. To minimize bias in estimating the sugar content, a correction factor of  $0.94^\circ$  Brix is proposed.

### Keywords

sampling • grapes • grape must • quality • valuation

## INTRODUCCIÓN

Determinar el momento adecuado para la cosecha de las uvas es una dificultad que debe enfrentar todo vitivinicultor, ya que el proceso de maduración tiene una relación directa con la calidad del mosto a obtener (1).

Para conseguir muestras representativas, se recomienda recorrer y muestrear en su totalidad el área a cosechar, teniendo en cuenta que si se encuentran diferencias topográficas, de textura de suelo, efectos de granizo, se deberá estratificar en tantos sectores como diferencias existan. En todos los casos se propone no tomar parcelas que superen las dos hectáreas aunque estas fueran uniformes (2).

Por otra parte, los contenidos de azúcares, ácidos y polifenoles de las uvas presentan diferencias según sea la posición de estas en la planta. El examen visual de los racimos en el momento de la

cosecha muestra que el color de las bayas cambia mucho en función de la posición en el racimo (1).

Se ha demostrado que existen diferencias, en los contenidos de antocianinas y taninos analizando baya por baya, entre las más expuestas al sol y las que no lo están (1).

La recolección de muestras de racimos es una parte esencial en el avalúo vitivinícola y debe representar a la parcela entera de vid (8), por lo tanto es importante que la metodología de muestreo evite sesgos atribuidos a la subjetividad, tal el caso de la selección de racimos grandes (11).

Desde el punto de vista estadístico, cada cuartel o parcela es una población objetivo con elementos que la componen y que se denominan unidades de muestreo. Por lo tanto como primer paso en un muestreo,

es necesario tener un marco o listado completo de las plantas del viñedo que conformarán la población objetivo (7).

Según lo indicado por Blouin y Guimberteau (2004), es conveniente desechar las plantas ubicadas en las dos primeras y dos últimas hileras de la parcela, como también el primer y último claro (4 a 6 plantas) de cada hilera. Esto se debe a que las plantas ubicadas en los extremos de las parcelas, reciben mejores condiciones de luminosidad, aireación y riego, por lo tanto son diferentes al resto del cultivo. A este conjunto de plantas desechadas se le denomina "bordura". Un marco será más adecuado cuando mejor cubra la población objetivo, es decir, cuando menor sea el error de cobertura (6). Esta organización es necesaria para diseñar el muestreo, de manera tal, que todas las unidades tengan igual probabilidad de ser seleccionadas (muestreo aleatorio simple).

Una técnica de muestreo utilizada en frutales es el muestreo sistemático con arranque aleatorio que consiste en dividir a la población de  $N$  elementos en  $k$  subpoblaciones, donde de cada una de ellas se selecciona una unidad. Si se desea seleccionar una muestra de  $n$  elementos, entonces la cantidad de subpoblaciones serán  $k = N/n$  (3).

El primer elemento se selecciona al azar entre 1 y  $k$  en la primera subpoblación y a este elemento ( $i$ ) se le denomina arranque aleatorio.

En la segunda subpoblación el elemento a seleccionar será el que se ubique en un sentido de marcha a  $i+k$  elementos del primero; el tercer elemento seleccionado será el ubicado a  $i+2k$  del primero. Este sistema de selección se sigue aplicando hasta cubrir las  $k$  subpoblaciones. Blouin y Guimberteau (2004), sugieren seleccionar entre 100 a 200 puntos de muestreo o plantas,

aplicando un muestreo sistemático con arranque aleatorio, quedando por definir la metodología para obtener las unidades analíticas donde se realizarán las determinaciones de interés. Una metodología sería: en cada planta, seleccionada por muestreo sistemático, cosechar todas sus uvas y obtener un jugo donde determinar el estado fisicoquímico.

Al usar  $n$  plantas, se obtendrían  $n$  jugos y así se contaría con  $n$  determinaciones de las características fisicoquímicas, con las cuales estimar los valores de los parámetros. Este procedimiento trae, en la práctica, el inconveniente de tener que cosechar plantas completas para realizar las determinaciones analíticas de su calidad enológica (5).

Otra metodología sería, en una primera etapa, seleccionar las plantas de la parcela mediante un muestreo sistemático y luego submuestrear, con un criterio prefijado, racimos de cada una de ellas (8, 9). Este muestreo en dos etapas (bietápico) implica la extracción de una cantidad total de racimos, en la parcela, que debería ser superior a 20, ya que cantidades menores llevan a resultados imprecisos (1).

Puesto que todos los racimos seleccionados en el muestreo bietápico, son conjuntamente estrujados para obtener el jugo donde se realizan las determinaciones físico-químicas, para calcular promedios y varianzas de dichas determinaciones, es necesario repetir el muestreo bietápico varias veces. Una tercera alternativa sería en una primera etapa seleccionar las plantas mediante un muestreo sistemático y luego, en una segunda etapa, submuestrear racimos y de estos submuestrear bayas (10).

Blouin y Guimberteau (2004), sugieren extraer entre 1 a 4 bayas de cada racimo seleccionado. Con el total de bayas extraídas se obtiene un jugo donde realizar las determinaciones.

Al igual que en la alternativa de submuestrear racimos, para estimar medias y varianzas, debe repetirse el muestreo con igual metodología.

Estas alternativas del diseño del muestreo definen la obtención de unidades analíticas donde realizar las determinaciones de la calidad de las uvas de la parcela. La precisión y exactitud en las estimaciones de las características del mosto de las uvas de la parcela, dependerán de la alternativa fijada en el diseño del muestreo. Los resultados podrían ser usados al definir criterios para el diseño de un plan de muestreo probabilístico en viñedos (4).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Durante las vendimias de los años 2005 y 2006, se trabajó en cuatro parcelas de la variedad Malbec con sistemas de conducción vertical "espaldero alto". Con el objeto de conocer los valores reales de las características físico-químicas del mosto obtenido de cada parcela, las cosechas fueron procesadas por separado: cada tanque de fermentación en bodega estaba asociado a la cosecha de una única parcela.

Se identificó la primera parcela como:

- I) Parcela Facultad de Ciencias Agrarias y las otras tres en la empresa Bodega Hacienda del Plata, que fueron:
- II) Sector Sur,
- III) Sector Norte y
- IV) Sector Este.

Todas ellas ubicadas en el Departamento de Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina.

En cada parcela se aplicó un muestreo sistemático con arranque aleatorio tomando como unidad de muestreo a una planta de vid y se ensayó tres criterios de selección.

El primero consistió en seleccionar  $n = 20$  plantas al azar, que fueron cosechadas individualmente.

Las uvas de cada planta fueron estrujadas y en el jugo resultante de cada planta se realizó las determinaciones de pH, acidez y contenido de azúcar; se obtuvo 20 determinaciones para cada variable.

Como segundo criterio se seleccionó  $n = 50$  plantas y posteriormente en una segunda etapa se submuestrearon dos bayas de cada planta, obteniéndose un total de 100 bayas con las que se obtuvo el jugo para las determinaciones físico-químicas.

La metodología del submuestreo aseguró la obtención de bayas ubicadas en diferentes posiciones dentro de las plantas.

Las 100 bayas obtenidas conformaban una unidad de análisis por lo que para estimar el promedio de cada variable físico-química y obtener la precisión de las estimaciones, el procedimiento de muestreo se repitió 6 veces ( $r = 6$ ).

Se trabajó con 6 unidades analíticas compuestas de 100 bayas cada una.

En el tercer criterio se seleccionó  $n = 10$  plantas y en una segunda etapa se submuestreó un racimo de cada una, siguiendo el mismo procedimiento que en el caso de extracción de bayas.

Al obtenerse un racimo por planta, se analizó el jugo de una unidad analítica compuesta del estrujado de todas las uvas de 10 racimos. Este procedimiento se repitió 6 veces.

Con el primer criterio, al cosechar 20 plantas, la consistencia de las estimaciones lógicamente será mayor que al usar  $r = 6$ , bajo los otros dos criterios.

Al cosechar toda una planta el jugo obtenido proviene de una cantidad no definida de bayas, lo cual implica un mayor costo al ser mayor número de uvas empleadas para las determinaciones posteriores, lo que no sucede con la aplicación del segundo criterio en el que se fijó el número de bayas a extraer para obtener un volumen suficiente de jugo para realizar las determinaciones.

Al no disponer de información al respecto, el valor de 100 bayas se consideró como una cantidad mínima necesaria. Con el jugo de 100 bayas se obtuvo un solo valor para cada característica del mosto, lo cual no permitía determinar la precisión de las estimaciones, por ello era necesario realizar repeticiones. Se fijó el número de 6 repeticiones lo que resultó en la selección de un total de 300 plantas para esta alternativa de muestreo.

El tercer criterio de cosecha de racimos se aplicó debido a que en la práctica es común optar por cosechar racimos, ya que asegura una gran cantidad no definida de bayas y un menor número de plantas a seleccionar. Los 10 racimos, uno por cada una de 10 plantas, conformaron una unidad de análisis y en consecuencia para estimar cada característica del mosto fue necesario utilizar repeticiones. Al fijar el número de repeticiones en 6, se seleccionó en total 60 plantas.

Los valores de las características físico-químicas del mosto obtenido de la cosecha completa de una parcela, fueron considerados los parámetros a estimar. Así, para el parámetro media ( $\mu$ ) obtenido con mediciones realizadas en la pileta de fermentación, su estimador  $\bar{X}$  se obtuvo a partir de las determinaciones de la misma característica sobre las unidades de análisis extraídas en cada muestreo.

Con el objeto de determinar la precisión de las estimaciones se construyeron intervalos de confianza al 95%. Se debe destacar que las determinaciones físico-químicas para las diferentes estrategias se realizaron sobre igual cantidad de volumen de jugo.

Lo que varía es la procedencia y la forma en que son extraídas las bayas, que

se estrujan manualmente para obtener la alícuota de dicho volumen.

Para el muestreo sistemático de plantas con el primer criterio se debe calcular, en un primer paso, el valor de  $k = N/n$ .

El arranque aleatorio se logra sorteando a la primera planta entre las que están ubicadas en la posición  $1 \leq i \leq k$  en el sentido de marcha que se haya definido. La  $i$ -ésima planta sorteada es la primera unidad de muestreo que se obtiene ( $P_1$ ), luego la segunda ( $P_2$ ) será la que está en la posición  $i+k$ , la tercera ( $P_3$ ) en  $i+2k$  y así sucesivamente hasta  $i+(n-1)*k$ , ( $P_{20}$ ).

Como en los otros dos criterios es necesario repetir el procedimiento  $r$  veces, entonces  $k = N/(n*r)$ . Se sortea la  $i$ -ésima planta entre 1 y  $k$ , inclusive, la cual es submuestreada y forma parte de la primera repetición ( $P_{11}$ ), la segunda ( $i+k$ ) el resultado del submuestreo es parte de la segunda repetición ( $P_{21}$ ) y así sucesivamente hasta la sexta planta seleccionada ( $P_{61}$ ).

La 7ª planta será  $P_{12}$ , y así repitiendo el ciclo cada 6 plantas seleccionadas.

Si a las  $r$  repeticiones o elementos del conjunto  $U$ , para cualquiera de las alternativas, se le realiza la medición de alguna de las variables físicoquímicas deseadas, por ejemplo la variable  $j$ -ésima luego los intervalos de confianza del 95% para la media en las diferentes  $X_j$  serán:

$$P(LI_j < \mu_j < LS_j) = 0,95$$

donde:

$LI_j$  = límite inferior

$LS_j$  = límite superior del intervalo para la media de la  $j$ -ésima variable que se obtiene a partir de

$$\bar{x}_j \pm t_{\alpha/2, r-S_j/\sqrt{r}} \text{ con media } \bar{x}_j = \sum_i^r x_{ij} / r \text{ y desviación estándar}$$

$$S_j = \sqrt{\sum_{i=1}^r (x_{ij} - \bar{x}_j)^2 (r-1)}$$

Cada procedimiento de muestreo genera para cada determinación un intervalo de confianza donde es deseable que su amplitud o longitud:  $L_j = LS_j - LI_j$ , sea lo más pequeña posible. A mayor precisión de las estimaciones menor será la longitud de los mismos. Con el objeto de medir la variación en las determinaciones, según la alternativa de muestreo empleada, es que se estima el coeficiente de variación  $CV_j$ .

Con el objeto de establecer si existen diferencias estadísticas entre las estimaciones obtenidas, para el contenido promedio de las variables azúcar, pH y acidez, según el criterio utilizado para cada parcela experimental, se realizó un análisis de los intervalos de confianza construidos.

Para comparar la exactitud de los diferentes criterios, se realizó una estimación del error cuadrático medio (ECM), promedio de los cuadrados de las diferencias entre la estimación obtenida según la unidad de análisis empleada y el parámetro determinado en el mosto, en base a todos los sectores analizados (s) en la pileta de fermentación (9):

$$ECM_j = \sum_{i=1}^s (\bar{X}_{ji} - \mu_{ji})^2$$

## RESULTADOS

La longitud de los intervalos de confianza por lo general, han sido menor al obtener una muestra compuesta de 100 bayas, que al cosechar 10 racimos o una planta entera. El contenido promedio de azúcar determinado en los tanques de bodega fueron menor que los promedios

obtenidos en las muestras. Esta falta de exactitud de los resultados, puede quizás explicarse, por la diferencias en el estrujado de las bayas y racimos en el laboratorio y el que realiza la moledora en la bodega. Lo cual, podría producir diferencias en las determinaciones, y deberían ser tenidas muy en cuenta.

En las determinaciones de acidez, los intervalos de confianza para la media que se ha obtenido a partir de 100 bayas, han contenido por lo general a las determinaciones de bodega.

Por el contrario, las obtenidas por racimos y cosecha de planta entera, han sobreestimado a tal valoración.

En general, la longitud de los intervalos de la variable pH han sido de longitud corta, cualquiera haya sido la unidad de análisis utilizada.

Para el Sector I, Este y Sur las medias del contenido de azúcar no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) al cosechar bayas, racimos o plantas. En cambio, el Sector Norte al cosechar racimos, su media presenta diferencias estadísticas con respecto a bayas y plantas.

En general, las medias de racimos han sido superiores en el contenido de azúcar, pero estas diferencias no son significativas a excepción del Sector Norte. Con respecto al pH, en los Sectores I y Este las medias de plantas presentaron diferencias estadísticas con respecto a bayas y racimos.

En el Sector Norte la media de bayas presentó diferencias con respecto a racimos y plantas; en cambio en el Sector Sur la media de racimos presentó diferencias con respecto a plantas y bayas.

Las medias de pH han sido en todos los casos mayor al cosechar bayas.

Para las determinaciones de acidez total, la media de bayas en el Sector I presentó diferencias significativas con respecto a las medias de racimos y plantas.

En el Sector Norte la media de racimos presentó diferencias con respecto a bayas y plantas; en cambio en los Sectores Este y Sur no se presentaron diferencias estadísticas entre las medias de la tres unidades de análisis cosechadas. En general las medias de plantas y racimos fueron superiores a las de bayas.

En la tabla 1 pueden observarse las varianzas estimadas según las distintas unidades de análisis consideradas para las tres determinaciones realizadas.

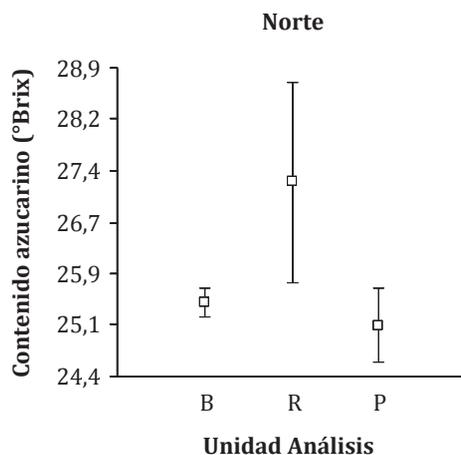
La mayor variación se encuentra entre plantas y la menor al tomar grupos de 100 bayas. Este resultado es importante para los diseños de muestreo que se deseen realizar, ya que deberán considerarse para reducir dicha variación la conveniencia de tomar una mayor cantidad de unidades de muestreo o puntos de muestreo (plantas) y menor cantidad de bayas o racimos dentro de las plantas.

La amplitud de los Intervalos de Confianza han sido, en general, menor al muestrear 100 bayas que al cosechar grupos de 10 racimos o una planta entera.

**Tabla 1.** Varianzas según unidad de análisis cosechada.

**Table 1.** Variances according harvested analysis unit.

Unidades	Tenor Azucarino	Acidez	pH
1 Planta	1,220	0,235	0,014
10 Racimos	0,640	0,120	0,110
100 Bayas	0,018	0,015	0,003



**Figura 1.** Longitudes de Intervalos 95% para la media de contenido de azúcar del sector Norte, según la unidad de análisis de: baya (B), racimos (R) y plantas (P).

**Figure 1.** Lengths of Intervals 95 % for the average of content of sugar of the sector North, according to the unit of analysis of: berry (B), clusters (R) and plants (P).

## CONCLUSIONES

Para conseguir una muestra representativa del viñedo y su población, se deben seguir procedimientos de muestreo probabilístico en los cuales es necesario identificar o considerar la extensión de todo el viñedo.

Si el viñedo es grande o tiene diferentes secciones topográficas o existen otras fuentes de variación que modifican el valor de la variable de interés, se debe estratificar o zonificar y muestrear cada zona por separado.

Entre los tipos de unidades de análisis consideradas en este trabajo, se concluye que el muestreo de mayor precisión consiste en tomar 100 bayas de un gran número de vides.

Para realizar una estimación y su correspondiente error de muestreo, es necesario tener al menos tres muestras compuestas que contengan 100 bayas o más.

El muestreo sistemático con arranque aleatorio, y tomando como unidad de muestreo a la planta asegura la cobertura de toda la parcela.

Debería ajustarse las técnicas del estrujado manual de las unidades de análisis, con el objeto de lograr mejor exactitud de los resultados. En caso de aplicar la presente metodología utilizando muestras compuestas de 100 bayas, se puede corregir el sesgo en la estimación del contenido de azúcar usando el factor  $0,94^{\circ}\text{Brix}$ .

## BIBLIOGRAFÍA

1. Blouin, J.; Guimberteau, G. 2004 Maduración y madurez de la uva. Mundi-Prensa. Madrid. 151 p.
2. Boulton, R. B.; Singleton, V. L.; Bisson, L. F.; Kunkee, R. E. 1995. Teoría y Práctica de la elaboración del vino. University of California David. Acribia. España. 365 p.
3. Fasciolo, G.; Reising, C. 2004. Manual de muestreo de plagas en montes frutales para técnicos agrícolas-INTA-Mendoza. Argentina. 15 p.
4. Flores, L. 2005. Variabilidad espacial del rendimiento de uva y calidad del mosto en cuarteles de vid Cabernet Sauvignon y Chardonnay en respuesta a la variabilidad de algunas propiedades del suelo. Agricultura Técnica-Chile-65(2): 210-220.
5. Lohr, S. 2000. Muestreo: Diseño y análisis- Internation Thomson. México. 480 p.
6. Pérez López, C. 2005. Muestreo estadístico. Conceptos y problemas resueltos. Pearson. España. 392 p.
7. Sheaffer, R. L.; Mendenhall, L.; Ott, R. 2007. Elementos de muestreo. Thompson- 6° Ed- España. 462 p.
8. Tarter, M. E.; Keuler, S. E. 2005. The effect of rachis position on size and naturity of Cabernet Sauvignon berries. American Journal Enology and Viticulture. 56: 86-89.
9. Tarter, M. E.; Keuler, S. E. 2008. Shoot-Based Sampling of *Vitis Vinifera* Clusters. American Journal Enology and Viticulture. 59: 1.
10. Taylor, J.; Whelam, B. 1999. Some very preliminary grape yield monitoring. Australian Centre for Precision Agriculture Bulletin. University Sidney, Australia. p: 1-5.
11. Wolpert, J. A.; Vilas, E. 1992. Estimating Vineyard Yields: Introduction to a simple, two step method. American Journal Enology and Viticulture. 43: 384-388.

## **Estudio del potencial biocontrolador de las plantas autóctonas de la zona árida del noroeste de México: control de fitopatógenos**

### **Study of the autochthonous plants as a potential biocontroller in the northwest area of Mexico: control of phytopathogens**

Gabriela Andrade-Bustamante<sup>1</sup>, Alejandro Manelik García-López<sup>1</sup>, Lourdes Cervantes-Díaz<sup>1</sup>, Carlos Enrique Aíl-Catzim<sup>1</sup>, Jesús Borboa-Flores<sup>3</sup>, Edgar O. Rueda-Puente<sup>3</sup>

Originales: *Recepción: 23/03/2016 - Aceptación: 13/09/2016*

#### **RESUMEN**

Los compuestos generados por medio del metabolismo secundario de las plantas tienen diferentes propiedades tanto repelentes como antimicrobianas, las cuales pueden ser utilizadas por la misma para controlar factores bióticos que alteran su calidad. La presencia de enfermedades en los cultivos agrícolas es una de las principales causas de pérdidas de producción, debido a que los microorganismos causales deterioran la calidad organoléptica y visual del fruto. En las zonas áridas, las condiciones de salinidad, altas y bajas temperaturas, entre otros factores abióticos, promueven en las plantas silvestres la expresión de compuestos como son los aceites esenciales, los cuales pueden ser utilizados en condiciones *in vitro* e *in vivo* para una inhibición en el crecimiento de fitopatógenos generando efectos fungicidas, fungistáticos, bactericidas. El uso de estos productos para controlar enfermedades en productos hortofrutícolas, motiva a ser una opción alterna al uso de pesticidas químicos. Sin embargo, la literatura es escasa cuando se trata de auscultar información relacionada con el biocontrol de plagas y enfermedades respecto de plantas del desierto, autóctonas de las zonas áridas.

#### **Palabras clave**

metabolitos secundarios • biocontrol • fitopatógenos

- 
- 1 Instituto de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma de Baja California, Carretera a Delta s/n. C.P. 21705, Ejido Nuevo León, Baja California, México.
  - 2 Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora. Blvd. Luis Encinas y Rosales s/n, Col. Centro. C.P. 83000, Hermosillo, Sonora, México.
  - 3 Departamento de Agricultura y Ganadería, Universidad de Sonora, Carretera a Bahía de Kino Km. 21. C.P. 23000 Sonora, México. erueda04@santana.uson.mx

## ABSTRACT

The compounds generated by the metabolism of plants have different properties such as antimicrobial like repellents which can be used by itself to control biotic factors which affect the quality. The presence of diseases in agricultural crops is one of the main causes of production losses, because the microorganisms are affecting the organoleptic and visual quality of the fruits. In dry arid zones, the conditions like salinity, high and low temperatures, among other abiotic factors promoted in wild plants the expression of compounds such as essential oils, which can be used in *in vitro* and *in vivo* conditions for growth inhibition of phytopathogenic to generate effects fungicides, fungistatic, bactericidal. The use of these products to control diseases in fruit and vegetable products, is an alternative option to the use of chemical pesticides. However, the literature is limited when it comes to auscultating information related with pests and diseases considering desert plants such as those grown in natural conditions in dry arid zones.

### Keywords

secondary metabolites • biocontrol • plant pathogen

## INTRODUCCIÓN

Una de las áreas importantes de producción agrícola a nivel mundial son las zonas áridas. Dentro de los rasgos característicos de estas áreas, son la indisponibilidad del recurso agua, altas y bajas temperaturas e intrusión salina entre otras.

Las zonas áridas producen el 60% de los alimentos a nivel mundial (32).

Una de las zonas de relevancia en la producción de alimentos en la República Mexicana, es el noroeste de México, el cual está conformado por los estados de Baja California, Baja California Sur, Chihuahua, Sinaloa y Sonora.

Las condiciones que prevalecen en esta región van desde los 50 a 230 mm de precipitación anual, con temperaturas que oscilan en los meses de verano entre los 38 y 52°C. Una marcada fluctuación de temperaturas diurna/nocturna y la velocidad del viento; baja disponibilidad de agua, debido a la alta evaporación; radiación solar incidente; los suelos de

estas zonas son variables en profundidad, variable textura, pH alcalinos, conductividad eléctrica altas y baja fertilidad; en ellos se acumulan carbonato y la tasa de infiltración del horizonte cálcico depende del contenido de carbonato (52). La intrusión salina se enfatiza provocando que las conductividades eléctricas varíen entre los 2 a los 8 decisiemens, ensalitrando los pozos de agua utilizados para la agricultura y lleguen a contener hasta 8±4 grL agua.

No obstante, la zona del noroeste de México, entre los principales cultivos con interés comercial de exportación son trigo, algodón, cártamo, ajonjolí, garbanzo, sorgo, maíz, vid, nogal, tomate, sandía, entre otros productos hortofrutícolas. La superficie destinada para estos cultivos en los estados de Baja California es de 206, 914 ha; Baja California Sur 45, 527 ha; Chihuahua 1, 110, 946 ha; Sonora 614, 606 ha y Sinaloa 1, 247, 384 ha (50, 77, 78, 85).

En las dos últimas décadas, en esta región noroeste, la producción de alimentos se ha visto mermada por factores bióticos, entre los que figuran las plagas y enfermedades.

Existen diversos patógenos que afectan los rendimientos de los cultivos bajo condiciones favorables hasta en un 65% de la producción total.

Entre los principales agentes causantes de enfermedades, se destacan los hongos fitopatógenos como son *Fusarium oxysporum* f. sp. cepae, *Sclerotium cepivorum*, *Pyrenochaeta terrestres*, *Alternaria dauci* f. solani (66, 72), *Botrytis cinerea*, *Fluvia fulva* y *Laveillula taurina*, entre otros. Con relación a bacterias fitopatógenas figuran *Clavibacter michiganensis*, *Pseudomonas siringe*, *Xanthomonas campestris* y *Pseudomonas corrugata* (14, 27, 41).

Los productores para competir comercialmente, se encargan de obtener una producción máxima de alimentos de alta calidad y buscan una reducción en la incidencia de plagas y microorganismos patógenos que afectan los cultivos y poscosecha.

En este sentido, como principal alternativa recurren al uso de agroquímicos. No obstante, una de sus principales desventajas es la resistencia a microorganismos fitopatógenos. Además, la sociedad al sector agrícola le demanda que el uso de los productos químicos como agroinsumos, sean cada vez menor, por lo que se buscan medidas alternativas que ayuden a reducir la incidencia de plagas y enfermedades, sin afectar la salud del consumidor y el medio ambiente (3, 6, 70).

Una de las alternativas de control para estos problemas es la producción orgánica, la cual busca favorecer los mecanismos de defensa que los organismos vivos poseen de manera natural, siendo la diversidad

un pilar fundamental para obtener y mantener el equilibrio. Además lleva a cabo el control por medio de agentes biológicos, microbiales, con el uso de extractos de origen vegetal.

El uso de productos naturales es cada vez más aceptado debido a la necesidad de emplear compuestos eficaces que no provoquen daño a la salud y al ambiente. Basándose en los usos populares de las plantas medicinales con potencial a ser utilizados en diferentes sectores como el agrícola, a pesar de la visión de las nuevas alternativas, hace falta investigación que permita enriquecer esta línea como una opción en el control de plagas y enfermedades a nivel comercial (22).

En las zonas áridas y semiáridas, a pesar de las condiciones extremas previamente indicadas, se desarrollan especies vegetales con potencial a ser utilizadas para la obtención de extractos y aceites esenciales con interés bioparasitocida (48, 72).

El uso de productos naturales se ha estudiado con base a que las plantas poseen un metabolismo secundario, el cual le permite producir compuestos de química diversa. Estos compuestos denominados metabolitos secundarios (MS) son utilizados por la planta como estrategia de defensa contra condiciones de estrés biótico y abiótico (49), principalmente cuando están expuestas a un ataque por insectos o microorganismos patógenos.

Las plantas sintetizan enzimas que degradan la pared celular de microorganismos o que tienen la capacidad de inactivar tóxicos de origen microbiano (5, 75).

Diferentes productos derivados de las plantas presentan compuestos con efectos sobre el control de algunos microorganismos, se destacan: flavonoides, fenoles, terpenos, alcaloides, lectinas y polipéptidos (1, 37).

Sus mecanismos de acción son variables; por ejemplo, la toxicidad de los fenoles en microorganismos se atribuye a inhibición enzimática por oxidación de compuestos.

El modo de acción de los terpenos no ha sido dilucidado por completo, pero se postula que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos (38, 42).

Debido a la información generada en los estudios mencionados, es importante destacar la importancia de contribuir con estudios que generen nuevas alternativas a los cultivos agrícolas para el control de plagas y enfermedades con productos que se encuentran disponibles en las zonas áridas.

### Objetivo

Dar a conocer la importancia de las plantas autóctonas de zonas áridas y su relación con el biocontrol de enfermedades fitopatógenas.

### Plantas nativas con potencial biocontrolador en zonas áridas de México

México tiene una biodiversidad muy amplia, en el país se llega a encontrar alrededor del 41% del territorio correspondiente a zonas áridas y semiáridas. Una región importante en el sector agrícola en la República Mexicana es la región noroeste, correspondiente a la zona árida localizada en las partes bajas de los estados de Sonora y las dos Baja Californias, extendiéndose a los Estados Unidos de América (Alta California y Arizona), la cual se conoce como Desierto Sonorense. Las zonas áridas en México tiene alrededor de 6.000 especies de plantas, de las cuales el 50% son endémicas (53).

Las especies de plantas en las zonas áridas tienen la característica de desarrollar adaptaciones morfológicas, fisiológicas y estrategias

biológicas, tal es el caso de la producción de metabolitos secundarios (MS).

El clima árido debido a su fisiografía, hidrología y edafología han creado condiciones adversas para el desarrollo de muchas especies vegetales. Estas condiciones de las zonas áridas obligan a las plantas a desarrollar adaptaciones, las cuales le permiten afrontar con éxito largos períodos de escasez de agua, ayudando a adaptarse y activar sus defensas para enfrentar estas adversidades (40).

En las zonas áridas se encuentran entre las principales familias de plantas las Acanthaceae, Agavaceae, Amaranthaceae, Anacardiaceae, Apiaceae, Apocynaceae, Arecaceae, Asclepiadaceae, Bignoniaceae, Boraginaceae, Bromeliaceae, Burseraceae, Buxaceae, Cactaceae, Capparidaceae, Celastraceae, Compositae, Convolvulaceae, Cucurbitaceae, Ebenaceae, Ericaceae, Euphorbiaceae, Fagaceae, Fouquieriaceae, Krameriaceae, Labiatae, Leguminosae, Loasaceae, Loranthaceae, Lythraceae, Malpighiaceae, Sterculiaceae, Malvaceae, Moraceae, Mutisieae, Nyctaginaceae, Papaveraceae, Poaceae, Polemoniaceae, Polygalaceae, Polygonaceae, Portulacaceae, Rhamnaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Salicaceae, Sapindaceae, Solanaceae, Sterculiaceae, Turneraceae, Ulmaceae, Verbenaceae, Vitaceae, Zygophyllaceae, principalmente, (2, 23, 60).

El aprovechamiento de las especies endémicas de las zonas áridas ha jugado siempre un papel socioeconómico muy importante. Se puede mencionar a la medicina tradicional cuyo estudio incluye una gran variedad de plantas dentro de su aplicación básica, además el uso doméstico de estas especies ha sido de gran relevancia algunas como fuente de alimento por su riqueza alimenticia, además se ser utilizadas por su valor ornamental y estético (35).

Con el paso del tiempo y como consecuencia del crecimiento de la población humana, del desarrollo social y de la aparición de la industria, muchas plantas han tenido una mayor demanda y cada día son más las especies requeridas en diversos ámbitos del desarrollo, puesto que representan una fuente natural de compuestos químicos y biológicos que tienen una vasta aplicación dentro de la economía (7, 15). Así se puede mencionar el caso del orégano, que ha sido explotado desde las culturas antiguas y consumido no solo a nivel nacional, sino internacionalmente (26).

Como parte de los mecanismos bioquímicos de defensa, las plantas también responden al ataque de patógenos a través de una gran cantidad de mecanismos. Los MS que producen las plantas no siempre están implicados en los ciclos metabólicos del vegetal sino que actúan como defensa contra depredadores o como sustancias de reserva, estos metabolitos pueden acumularse en distintos tejidos de la planta, frutos o sus aceites esenciales (51, 86).

En la tabla 1 (pág. 132), se identifican el tipo de microorganismos fitopatógenos que son controlados por compuestos de familias botánicas.

Debido a la falta de selectividad y biodegradabilidad de los plaguicidas, las plantas de las zonas áridas presentan un potencial para uso biocontrolador en la agricultura; el mal uso de agroquímicos los ha hecho potencialmente tóxicos tanto para el hombre como para el medio ambiente, siendo el principal problema, la acumulación de residuos tóxicos persistentes. Esto último, ha dado pie a la búsqueda de plantas de zonas áridas para uso biocontrolador. Tal es el caso de estudios de Vargas-Arispuro y Martínez-Telléz (1998), quienes realizaron investigación con extractos de plantas endémicas provenientes de las zonas áridas del estado de Sonora, donde los

estudios de extractos con diclorometano de *Larrea tridentata*, *Chenopodium ambrosioides*, *Encelia farinosa* inhibieron más del 70% a *Botrytis cinérea*, considerando el uso de las plantas de zonas áridas como una fuente de obtención de extractos de interés antifúngico.

Desde hace dos décadas, otro de los usos que están teniendo este tipo de plantas, es el ser utilizadas en sector agrícola como repelentes contra plagas insectiles, tal es el caso del uso de productos derivados de neem (*Azadirachta indica*) que redujo la ovoposición, eclosión de huevecillos y emergencia de adultos de *Bemisia tabaci* (23,1; 53,2 y 26,6%, respectivamente) (39).

Extractos de Nim (*Azadirachta indica*) también aparecen reportados en el cultivo de algodón, ocasionando del 73 al 100% de mortalidad en ninfas de la mosca blanca (68).

Otros estudios de Osuna-Carreón *et al.* (2014), indican que el aceite esencial de *Pluchea sericea* sobre adultos de *Bemisia tabaci*, mostró resultados donde la planta tiene potencial para controlar adultos de mosquita blanca donde se presentaron valores de CL50 menores cuando el extracto provino de las hojas de planta.

Las plantas nativas del Noroeste de México se encuentran reportadas con estudios para el control de microorganismos patógenos que afectan a los cultivos agrícolas, tal es el caso de plantas como Orégano (*Lippia* sp.) y Gobernadora (*Larrea tridentata*), que se presentan con efectos fungicidas (48).

El orégano localizado en las regiones de Coahuila, Chihuahua y Sonora, con componentes mayoritarios al Timol y Carvacrol fue utilizado como inhibidor de crecimiento de hongos contaminantes y bacterias patógenas relacionadas con los alimentos (*E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *Salmonella* sp.) (60, 74).

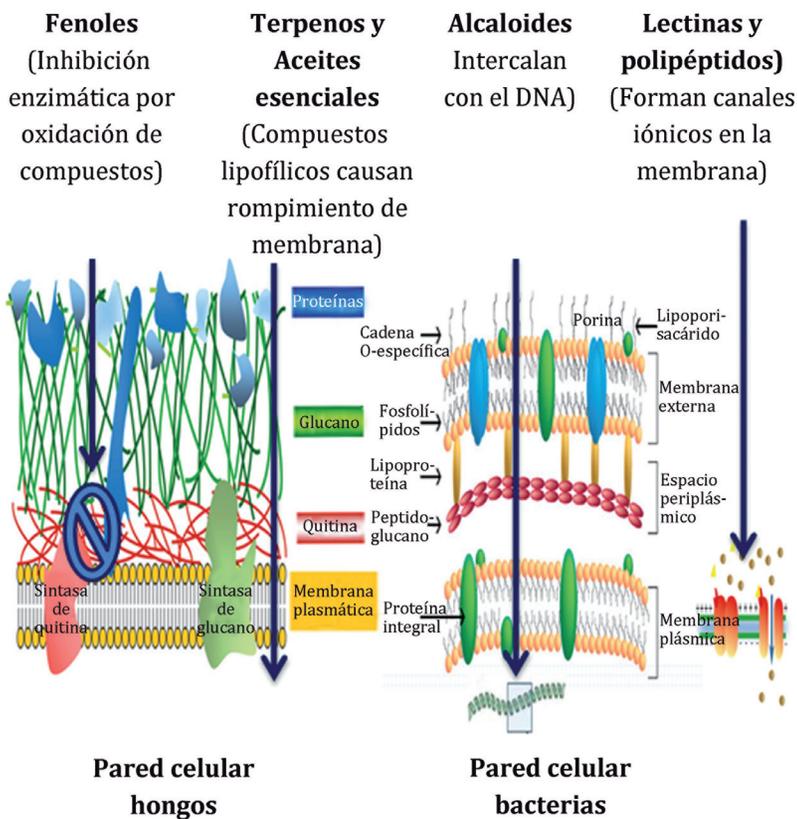
**Tabla 1.** Identificación de microorganismos fitopatógenos que son controlados por compuestos de familias botánicas.**Table 1.** Identification of phytopathogenic microorganisms that are controlled by compounds of botanical families.

Familia	Compuestos identificados	Fitopatógeno que controla	Referencia
Amaranthaceae ( <i>Chenopodium ambrosioides</i> )	p-cimeno y ascaridole	<i>Tilletia indica</i>	(Rivera-Castañeda <i>et al.</i> , 2001) (Vargas-Arispuro <i>et al.</i> , 1998) (Degenhardt <i>et al.</i> , 2016)
Asteraceae ( <i>Baccharis glutinosa</i> )	Flavonoides, fenoles	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>Fusarium verticillioides</i> , <i>Fusarium poae</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> y <i>Penicillium expansum</i> .	(Rosas-Burgos <i>et al.</i> , 2009) (Suárez-Jiménez <i>et al.</i> , 2007) (Tequida-Meneses <i>et al.</i> , 2002) (Valenzuela-Cota <i>et al.</i> , 2014) (Sartori <i>et al.</i> , 2015)
Asteraceae ( <i>Encelia farinosa</i> )	No reportados	<i>Tilletia indica</i>	(Rivera-Castañeda <i>et al.</i> , 2001) (Vargas-Arispuro <i>et al.</i> , 1998)
Martyniaceae ( <i>Proboscidea parviflora</i> )	No reportados	<i>Fusarium poae</i>	(Tequida-Meneses <i>et al.</i> , 2002)
Meliaceae ( <i>Swietenia humilis</i> )	Alcaloides y glucósidos terpenoides	<i>Rhizopus stolonifer</i> <i>Pseudocercospora opuntiae</i>	(Angulo-Escalante <i>et al.</i> , 2009) (Ochoa <i>et al.</i> , 2016)
Solanaceae ( <i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>Glabriusculum</i> )	Compuestos fenólicos (ácidos camarico y clorogénico)	<i>Alternaria alternata</i> y <i>Fusarium oxysporum</i>	(Montoya-Ballesteros <i>et al.</i> , 2010) (Rodríguez-Maturino <i>et al.</i> , 2015)
Solanaceae ( <i>Datura discolor</i> )	No reportados	<i>Fusarium poae</i> , <i>Aspergillus flavus</i> y <i>Penicillium expansum</i>	(Tequida-Meneses <i>et al.</i> , 2002)
Theophrastaceae ( <i>Jacquinia macrocarpa</i> )	No reportados	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i> y <i>Fusarium verticillioides</i>	(Nava-Pérez <i>et al.</i> , 2012)
Verbenaceae verbenaceae ( <i>Lippia berlandieri</i> )	Ácidos fenólicos, flavonoides y compuestos volátiles (Eugenol, Timol y Carvacrol)	<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Geotrichum candidum</i> , <i>Trichoderma</i> spp., <i>Penicillium digitatum</i> y <i>Aspergillus niger</i>	(Cáceres-Rueda de León <i>et al.</i> , 2013) (Castellanos González <i>et al.</i> , 2015)
Verbenaceae ( <i>Lippia graveolens</i> )	Carvacrol, p-cimeno y timol	<i>Alternaria alternata</i>	(Rodríguez-García <i>et al.</i> , 2016)
Verbenaceae ( <i>Lippia palmeri</i> W.)	p-cimeno, timol, iso-aromandrene, carvacrol, $\beta$ -terpineno, p-timol, epóxido longipinene, $\alpha$ -eudesmol, epóxido $\alpha$ -bisaboleno, limoneno-6-ol, p-cimeno, Cariofileno, acetato de timol, mirceno, $\alpha$ -cariofileno, linalool y terpineno-4-ol.	<i>Clavibacter michiganensis</i> subespecie <i>Michiganensis</i>	(Borboa-Flores <i>et al.</i> , 2010)
Zygophyllaceae ( <i>Larrea tridentata</i> )	Lignanos fenólicos (Ácido Dihidroguaiaarético, Hemimorisoguaiaicin, Ácido nordihidroguaiaarético, Nordihidroguaiaicin); flavonoides (Apigenin, Kaempferol); saponinas (Larreaagenin A, Ácido Larréico).	<i>Alternaria tenuissima</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>Botrytis cinérea</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>Fusarium poae</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i> , <i>Penicillium expansum</i> , <i>Penicillium polonicum</i> , <i>Rhizopus oryzae</i> y <i>Tilletia indica</i> .	(Lira-Saldívar, 2003) (Peñuelas-Rubio <i>et al.</i> , 2015) (Tequida-Meneses <i>et al.</i> , 2002) (Rivera-Castañeda <i>et al.</i> , 2001) (Vargas-Arispuro <i>et al.</i> , 1997) (Vargas-Arispuro <i>et al.</i> , 1998) (Boiteux <i>et al.</i> , 2015)

En la figura 1, puede identificarse las rutas involucradas de los extractos de plantas que se utilizan para el control de enfermedades. Para el caso de los terpenos y aceites esenciales como compuestos lipofílicos que provocan un rompimiento de membrana de hongos; los fenoles por su parte generan una inhibición enzimática por oxidación de compuestos en hongos; los alcaloides, intercalan con el DNA bacteriano y las lectinas y polipéptidos, forman canales iónicos en la membrana de los procariones.

### Actividad antifúngica y antibacterial de extractos de plantas en la agricultura

Las plantas para protegerse de plagas y enfermedades por sí mismas recurren a la producción de diversos metabolitos secundarios, muchos de los cuales están reportados presentando actividad antifúngica. Entre los compuestos destacados mencionados por la literatura se encuentran los más conocidos como los flavonoides, fenoles, glicósidos de fenoles, saponinas, etc. (29, 88).



**Figura 1.** Rutas involucradas de los extractos de plantas que se utilizan para el control de enfermedades.

**Figure 1.** Involved routes of plant extracts used for the control of diseases.

El mecanismo de acción es variable, por ejemplo la toxicidad de los fenoles en microorganismos se atribuye a inhibición enzimática por oxidación de compuestos. El modo de acción de los terpenos y aceites esenciales no ha sido dilucidado por completo, pero se postula que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos.

De los alcaloides se ha postulado que se intercalan con el DNA, y de las lectinas y polipéptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (47).

Las actividades antifúngica y antibacteriales de las especies de plantas de diferentes ambientes ecológicos y abundantes en la naturaleza ha sido reportada en diferentes estudios frente a fitopatógenos, tanto en condiciones *in vitro* como *in vivo* con el fin de apoyar en el control de enfermedades de cultivos agrícolas (19, 55).

Las enfermedades más comunes en productos hortofrutícolas son después de la cosecha, reflejados en daño fisiológico y patológico (13).

Según Calvo y Martínez-Martínez (2009), los antimicrobianos tienen diferentes mecanismos de acción: a) la inhibición en la síntesis de la pared bacteriana; b) los que bloquean mecanismos de resistencia (los más importantes son los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas de serina, que incluyen ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam); c) los mecanismos que actúan en la membrana citoplásmica; d) los inhibidores de la síntesis proteica; e) los que actúan en el metabolismo o la estructura de los ácidos nucleicos y f) los de mecanismo de bloqueo de la síntesis de factores metabólicos.

Los aceites y extractos de las plantas principalmente de clavo (*Syzygium aromaticum*), orégano (*Origanum vulgare*), tomillo (*Thymus vulgaris*), entre otros, presentan actividad inhibitoria contra ciertos microorganismos de importancia en los alimentos, a estos compuestos no se les atribuye un mecanismo de acción específico. Sin embargo, existen algunos sitios de acción en la célula donde puede ocurrir algún efecto como daño a la membrana citoplasmática, degradación de la pared celular, daño a las proteínas, filtración del contenido celular, coagulación al citoplasma o disminución a la fuerza motriz.

El carvacrol presente en aceites esenciales de orégano y tomillo, presenta un mecanismo de acción donde es capaz de desintegrar la membrana externa de las bacterias (Gram negativas), permitiendo la salida de lipopolisacáridos e incrementando la permeabilidad de la membrana citoplasmática provocando la salida del ATP inhibiendo la actividad de las ATPasas (38).

Los metabolitos secundarios de las plantas tiene diversos métodos de obtención dependiendo del fin para la aplicación. Estudios mencionan las maneras más comunes de extraer los metabolitos de material vegetal, el cual se puede obtener a partir de extractos acuosos (46), aceites esenciales (8, 11, 89) y productos alcohólicos con la ayuda de disolventes metanólicos y etanólicos entre otros (55).

### **Extractos alcohólicos**

El uso indiscriminado de sustancias desarrolladas sintéticamente para el control de plagas y enfermedades, ha ocasionado la inducción de resistencia de algunos microorganismos. Es por ello que se buscan nuevas alternativas para el control.

Se ha estudiado el uso de productos etanólicos y metanólicos derivados de plantas, tal es el caso de estudios de Gamboa-Alvarado *et al.* (2003) donde se extrajo la resina de *Flourensia cernua*, *Origanum majorana* y *Bouvardia ternifolia* con metanol mediante el método de Sóxhlet, para evaluar su efecto en el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans in vitro*.

Los resultados expresados en porcentaje de inhibición fueron aceptables para los tres extractos sobre *R. solani*, mostrando un efecto fungistático hasta la dosis de 20,000 ppm.

Para el caso de *P. infestans* se obtuvieron valores altamente significativos al obtenerse que el extracto de *O. majorana* presentó un efecto fungicida desde la dosis de 8,000 ppm; mientras que los extractos *F. cernua* y *B. ternifolia* mostraron un ligero efecto fungistático a dosis altas.

Estudios reportados por Tequida-Meneses (2002), con extractos alcohólicos utilizando los solventes metanol y etanol al 70% en *Larrea tridentata*, *Datura discolor*, *Baccharis glutinosa* y *Proboscidea parviflora* sobre las especies de hongos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium poae* y *Fusarium moniliforme*, controlaron al menos el crecimiento de dos especies de hongos. Por ejemplo, *L. tridentata*, inhibió el crecimiento de las seis especies de hongos en un rango de 41,5% hasta el 100% tomando en cuenta tanto a los extractos metanólicos como a los extractos etanólicos.

### Estudios con aceites esenciales

Las plantas poseen una capacidad casi ilimitada para sintetizar sustancias aromáticas, entre las cuales se encuentran como la mayoría fenoles o sus derivados oxígeno-sustituídos.

En general son metabolitos secundarios, es decir, que no tienen un papel esencial en el metabolismo de la plantas pero sirven a la planta para otras funciones entre las que destacan las de defensa, de acuerdo con Walton y Brown (1999). Estos productos nombrados comúnmente esencias, son sustancias olorosas volátiles contenidas normalmente en los vegetales. Su volatilidad los diferencia de los aceites fijos que producen los lípidos, los cuales son particularmente abundantes en las Retaceas, Umbelíferas, Mirtáceas y Labiadas (82). Son compuestos del agradable olor de determinadas plantas y algunos con poder antimicrobiano como el mentol obtenido de la menta (*Menta piperita*) y la capsaicina de la planta conocida como pimiento rojo o chile (*Capsicum annuum*) (31).

El uso de aceites esenciales en el control de microorganismos patógenos ha sido estudiado en los últimos años, tal es el caso donde se ha mostrado que el aceite esencial de orégano (*Lippia palmeri* S. Wats) de materiales recolectados en el estado de Sonora y utilizado frente a patógenos de salud humana ha presentado actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli* O157:H7 y *Staphylococcus aureus*. Atribuyendo la propiedad a la presencia de compuestos como carvacrol, timol, p-cimeno, cariofileno, acetato de timol,  $\alpha$ -bisaboleno,  $\gamma$ -terpineno, mirceno y  $\alpha$ -cariofileno (58). Estos resultados apoyan el concepto de que pueden ser utilizados para saborizar y preservar alimentos (26).

Esta misma especie *Lippia palmeri*, ha sido reportada por Borboa-Flores *et al.* (2010) en el control de fitopatógenos como *Clavibacter michiganensis* el cual ocasiona la enfermedad chancro bacteriano en tomate; también se utilizaron aceites esenciales como (*Thymus vulgaris*) y Canela (*Cinnamomum zeylanicum*). Con

mayor efecto antibacteriano, destaca el aceite esencial de orégano en tres concentraciones 1:1, 1:5 y 1:10.

El fitopatógeno *Fusarium* sp. ha sido reportado afectando frutos, por lo que se han reportado efecto antifúngico de aceites esenciales. En bioensayos en la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium* sp., se observó un efecto antifúngico del el aceite de *Thymus vulgaris* con total inhibición a 200, 250 y 300 µg/ml. Mientras que los aceites de *Cinnamomum zeylanicum*, *Syzygium aromaticum* y *Teloxysambrosioides*, mostraron una inhibición del crecimiento micelial con dosis de 100 a 300 µg/ml (57).

### **Mecanismos de acción de aceites esenciales**

Los aceites esenciales han demostrado poseer características insecticidas, antioxidantes, anti-bacterianos, antifúngicos, antiviral (16, 25, 44).

Se ha demostrado que los géneros *Origanum* (orégano) y *Thymus* (Tomillo), *Cinnamom* (Canela), tienen propiedades antioxidantes, relacionadas con los compuestos fenólicos, carvacrol y el timol que pueden ser utilizados bajo ciertas condiciones como fungicidas y bactericidas, para inducir la lisis rápida de la célula bacteriana (9).

Los mecanismos de acción de los diversos compuestos orgánicos de las plantas son variables, y la toxicidad de los fenoles se atribuye a la oxidación de compuestos en la célula (28). Del carvacol se ha reportado que se encuentra presente en aceite esencial de orégano en un 60 a 70% y en tomillo 45%. La inhibición de crecimiento de muchos patógenos por carvacol ha sido reportada en varios artículos, sin embargo no se ha definido el mecanismo de acción de este (65).

Respecto del aceite de tomillo, se menciona que su mecanismo de acción es por un rompimiento de la membrana a

través de los compuestos lipofílicos (62).

Los triterpenos pueden actuar siguiendo diversos mecanismos en dependencia de su naturaleza química. Los triterpenos de naturaleza alcohólica pueden alterar la naturaleza coloidal del protoplasma celular provocando su muerte (63).

De los alcaloides se ha postulado que se intercala con el ADN, el de las lectinas y polipéptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (28).

Otro estudio reporta que los componentes del aceite esencial interfieren con las funciones de permeabilidad de la membrana celular (45).

Se ha reportado que el aceite esencial de fragarin, puede alterar la permeabilidad e interrumpir la función de la membrana celular de hongos y bacterias, dando por resultado la disipación del potencial de la membrana. De igual forma, fue confirmado que con el uso de los liposomas, la inhibición inmediata del consumo de oxígeno y la disipación inmediata del potencial de la membrana, el efecto sobre la membrana precede o es simultáneo con la muerte celular (34).

Otros compuestos como los esteroides pueden interferir en determinados procesos de síntesis vitales de la célula bacteriana (63).

En la búsqueda de sustancias naturales que permitan desarrollar nuevas estrategias para controlar y eliminar plagas, se han realizado numerosas investigaciones con aceites esenciales, y se ha observado que actúan como bio-controladores debido a la presencia de metabolitos secundarios, los cuales están implicados en el control biológico contra organismos fitopatógenos, y en ciertos casos, activando procesos de defensa

en la planta, brindando una protección preventiva (21, 33, 43). Estas fracciones líquidas volátiles que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas, son mezclas complejas de hasta 100 componentes, entre ellos: terpenoides, fenoles aromáticos, éteres, ésteres, aldehídos y cetonas que determinan el aroma característico de la planta donante (10, 76).

Shiva (2007), indica que los metabolitos secundarios, se encuentran en estructuras histológicas especializadas, localizadas sobre o cerca de la superficie de la planta.

Su función en la planta sigue en estudio pero se asocia a la inhibición de la germinación de malas hierbas y como protección contra bacterias, hongos e insectos y para favorecer la polinización (76).

Los aceites esenciales son biodegradables, amigables con el ambiente y poseen bajos o inexistentes niveles de toxicidad, lo que permite que sean utilizados en cualquier ambiente (24). Lo anterior se ha reflejado en el interés que han mostrado los investigadores para obtener nuevos conocimientos sobre el potencial de las plantas aromáticas, sobre las bacterias fitopatógenas, donde se evaluó la actividades antibacterianas de los aceites esenciales de las plantas medicinales contra el crecimiento del *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* utilizando los aceites esenciales obtenidos de las plantas de orégano (*Origanum syriacum*), tomillo (*Thymbra spicata*), menta (*Mentha spicata*) y lavanda (*Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*).

El resultado indicó que el aceite

esencial del tomillo fue el más eficaz de inhibir el crecimiento de bacterias como *Clavibacter michiganensis*, seguido por los aceites de orégano, menta y lavanda (79).

## CONCLUSIÓN

Las zonas áridas presentan una diversidad de plantas con potencial para ser utilizadas en el biocontrol de enfermedades fitopatógenas, ya que presentan metabolitos secundarios entre los que figuran monoterpenos, sesquiterpenos y compuestos fenólicos que tienen acción biocontroladora de agentes causantes de enfermedades en plantas.

El uso de plantas nativas de ambientes árido-salinos es una alternativa útil para el apoyo en campo y postcosecha de productos hortícolas para reducir la presencia de agentes patógenos que son causantes de pérdidas de rendimiento y producción, además de deteriorar la calidad en el fruto. Estos productos vegetales con enfoque biocontrolador ayudan a reducir el uso de químicos sintéticos utilizados en la agricultura.

No obstante, es importante dilucidar más especies vegetales que se desarrollan en ambientes de aridez y salinidad como es el Desierto de Sonora y ahondar sobre la composición de metabolitos secundarios presentes y su posible acción biocontroladora sobre plagas y microorganismos fitopatógenos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Aballa, A.; Rosen, J. P. 2001. The effects of stabilized extracts of sage and oregano on the oxidation of salad dressings. *European Food Research and Technology*. 212: 551-560.
2. Ackerman, B. A.; Johnson, G. D.; Navarro, C. A.; Alcaraz, F. R. 1991. Gramíneas de Sonora. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Comisión Técnico Consultiva de Coeficientes de Agostadero. 174 p.
3. Andrade, L. A. T.; Orozco, M. S. S.; Correa, C. R. B.; Davey, C. H. 2015. Efecto fungistático de extractos y aceites esenciales de *Lippia origanoides* HBK y *Thymus vulgaris* L. como alternativas de manejo de *Botrytis cinerea* en fresa. *Acta Agronómica*. 64(1): 93-99.
4. Angulo-Escalante, M. Á.; Armenta-Reyes, E.; García-Estrada, R. S.; Carrillo-Fasio, J. A.; Salazar-Villa, E.; Valdéz-Torres, J. B. 2009. Extractos de Semilla de *Swietenia humilis* Zucc. con Actividad Antifúngica en *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. *Revista mexicana de Fitopatología*. 27(2): 84-92.
5. Ávalos, G. A.; Pérez-Urria, C. E. 2009. Serie Fisiología Vegetal. *Reduca Biología* 2 (3): 119-145.
6. Badii, M. H.; Landeros, J. 2015. Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *Cultura Científica y Tecnológica*. 4(19): 22-34.
7. Barkla, B. J.; Vera-Estrella, R.; Balderas, E.; Pantoja, O. 2007. Mecanismos de tolerancia a la salinidad en plantas. *Biocología*. 14: 263-272.
8. Barrera, L. L.; García, L. J. 2008. Actividad antifúngica de aceites esenciales sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. *Revista Universidad de Oriente Agrícola*. 8(1): 33-41.
9. Basim, E.; Basic, H.; Dikstein, E. R.; Jones, J. B. 2004. Bacterial Canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on greenhouse-grow tomato in the Western Mediterranean region of Turkey. *Plant Disease*. 88: 1048.
10. Batish, D.; Singh, H.; Kohli, R.; Kaur, S. 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecol. Manage. In Press*. Doi. 10: 1016.
11. Bedoya, O. A.; Bolaños, F.; Villota, O.; Hurtado B. A.; Toro, I. 2012. Optimización del rendimiento y contenido de timol de aceite esencial de orégano silvestre obtenido por arrastre con vapor. *Biocología en el sector agropecuario y agroindustrial*. 10(2): 217-226.
12. Boiteux, J. J.; Hapon, M. V.; Fernández, M. de los A.; Lucero, G. C.; Pizzuolo, P. H. 2015. Efecto del extracto acuoso de chañar (*Geoffroea decorticans* Burkart) sobre *Botrytis cinerea*, como posible alternativa para su control durante poscosecha de uva de mesa. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina*. 47(1): 241-250.
13. Bolívar, K.; Sanabria, M. E.; Rodríguez, D.; De Camacaro, M. P.; Ulacio D.; Cumana, L. J.; Crescente O. 2009. Potencial efecto fungicida de extractos vegetales en el desarrollo *in vitro* del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. y de la antracnosis en frutos de mango. *Revista Científica UDO Agrícola*. 9(1): 175-181.
14. Borboa-Flores, J.; Rueda-Puente, E.; Acedo-Félix, E.; Ponce, J.; Cruz-Villegas, M.; García-Hernández, J.; Ortega-Nieblas, M. 2010. Evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* de aceites esenciales contra *Clavibacter michiganensis* subespecie *michiganensis*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 12(3): 539-547.
15. Borrego-Alonso, S. 2015. Los biocidas vegetales en el control del biodeterioro del patrimonio documental. *Perspectivas e impacto*. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 46(3): 259-269.
16. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94: 223-253.
17. Cáceres-Rueda de León, I.; Colorado-Vargas, R.; Salas-Muñoz, E.; Muñoz-Castellanos, L. N.; Hernández-Ochoa, L. 2013. Actividad Antifúngica *in vitro* de extractos acuosos de especias contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*. *Revista mexicana de Fitopatología*. 31(2): 105-112.
18. Calvo, J.; Martínez-Martínez, L. 2009. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. 27(1): 44-52.

19. Camele, I.; Altieri, L.; De Martino, L.; De Feo, V.; Mancini, E.; Rana, G. L. 2012. *In vitro* control of post-harvest fruit rot fungi by some plant essential oil components. International Journal of Molecular Science. 13(2): 2290-2300.
20. Castellanos González, L.; Lorenzo Nicao, M. E.; Muiño, B. L.; Hernández Pérez, R.; Guillen Sánchez, D. 2015. Efecto *in vitro* de plaguicidas comerciales sobre *Trichoderma harzianum* cepa A- 34. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 47(2): 185-196.
21. Castillo, J. 2004. Determinación de metabolitos secundarios en plantas silvestres del parque nacional Terepaima, municipio Palavecino, estado Lara. Tesis. Universidad Centrooccidental Lisandro Alvarado, Venezuela. p. 103.
22. Cázar, M. E.; Villena, P.; Parra, J.; Espinoza, V.; Larriva, G.; Caldas, A. 2015. Eficacia de extracto etanólico de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) en el control de *Alternaria* sp. en cultivos de col y patata. Maskana. 5(1): 33-41.
23. Cervantes, M. 2005. Plantas de importancia económica en zonas áridas y semiáridas de México. Anais do X Encontro de Geógrafos da América Latina: 3388-3407.
24. Cheng, S.; Liu, J.; Huang, C.; Hsui, Y.; Chen, W.; Chang S. 2009. Bioresource Technology. 100: 457-464.
25. Cisterna Cahuer, V.; Sepúlveda Chavera, G. 2015. Efficiency of an enzymatic detergent in the control of *Praeelongorthezia olivicola* (Beingolea) (Hemiptera: Ortheziidae) in the Northern Chile. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 47(2): 213-218.
26. Corella-Bernal, R. A.; Ortega-Nieblas, M. M. 2013. Importancia del aceite esencial y la producción de orégano *Lippia palmeri* Watson en el estado de Sonora. Biotecnia. 15(1): 57-64.
27. Cotoras, M.; Silva, E. 2005. Differences in the initial events of infection of *Botrytis cinerea* strains isolated from tomato and grape. Mycologia. 97:485-92.
28. Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 10: 564.
29. Davicino, R.; Mattar, M. A.; Casali, Y. A.; Correa, S. G.; Pettenati, E. M.; Micalizzi, B. 2007. Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina. Revista peruana de biología. 14(2): 247-252.
30. Degenhardt, T. R.; Farias, V. I.; Grassi, T. L.; Franchi, C. G.; Nowill, E. A.; Bittencourt, M. D. S. C.; Wagner, M. T.; De Souza, M. M.; Malheiros, A. 2016. Characterization and evaluation of the cytotoxic potential of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides*. Revista Brasileira de Farmacognosia. 26(1): 56-61.
31. Domingo, D.; López, B. M. 2003. Plantas con actividad antimicrobiana. Rev. Esp Qimoterap. España. 16(4): 385-393.
32. De Santa Olalla, M. F.; López, F. P.; Calera, B. 2005. Agua y Agronomía. Editorial Mundi-Prensa. España. 330 p.
33. Ducrot, P. H. 2005. Organic chemistry's contribution to the understanding of biopesticida activity of natural products from higher plants. p. 47-58. En: Regnault, R. C.; B. J. J. Philogene; C. Vincent (eds.). Biopesticides of plant origin. Lavoiser and Intercept, Ltd., Paris and Andover. 313 p.
34. Filippone, M. P.; Días, M. P.; Diaz, J. C.; Castagnaro, R. A.; Ricardo, P.; Farías R. N. 2001. Effect of Fragarin on the Cytoplasmic Membrane of the Phytopathogen *Clavibacter michiganensis*. Molecular Plant-Microbe Interactions. 14(7): 925-928.
35. Flores, G. J. A.; Macías, C. G. V. 2008. Importancia de las cactáceas como recurso natural en el noreste de México. CIENCIA-UANL. 11(1): 5-11.
36. Gamboa-Alvarado, R.; Hernández-Castillo, F. D.; Guerrero-Rodríguez, E.; Sánchez-Arizpe, A.; Lira-Saldívar, R. H. 2003. Inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora infestans* Mont.(de Bary) con extractos vegetales metanólicos de Hojasén (*Flourensia cernua* DC), Mejorana (*Origanum majorana* L.) y Trompetilla (*Bouvardia ternifolia* Ca. Schlecht). Revista Mexicana de Fitopatología. 21(1): 13-18.
37. García, C.; Martínez, A.; Ortega, J.; Castro F. 2010. Componentes químicos y su relación con las actividades biológicas de algunos extractos vegetales. Revista Química Viva. 2: 86-96.
38. García-García R. M.; Palou-García, E. 2008. Mecanismos de acción antimicrobiana de timol y carvacrol sobre microorganismos de interés en alimentos. Temas selectivos de Ingeniería de Alimentos. 2(2): 41-51.

39. González-Maldonado, M. B.; García-Gutiérrez, C. 2012. Uso de biorracionales para el control de plagas de hortalizas en el norte de Sinaloa. *Ra Ximhai*. 8(3): 31-45.
40. Granados-Sánchez, D.; López-Ríos, G. F.; Gama-Flores, J. L. 1998. Adaptaciones y estrategias de las plantas de zonas áridas. *Ciencias Forestales y del Ambiente*. 4(1): 169-178.
41. Guisado, F. H.; Bernabé, J. R. 2004. Descripción y control del mildiu y oídio en tomate de industria. *Vida rural*. 191: 38-41.
42. Hernández, A. N.; Bautista, S.; Velásquez, M. G. 2007. Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 30 (2):119-123.
43. Kagale, S.; Marimuthu, T.; Thayumanavan, B.; Nandakuman, R.; Samiyappan, R. 2004. Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomona oryzae* pv. *oryzae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 65: 91-100.
44. Kordali, S.; Fakir, A.; Mavi, A.; Yildirim, A. 2005. Screening of Chemical Composition and Antifungal and Antioxidant Activities of the Essential Oils from three Turkish *Artemisa* Species. *J. Agric. Food. Chem.* 53: 1408-1416.
45. Lambert, R. J.; Hanlon, G. W.; Denyer, S. P. 2004. The synergistic effect of EDTA/antimicrobial combinations on *Pseudomonas aeruginosa*. *J Appl Microbiol*: 96 (2):244-253.
46. Lastra, V. H.; Rodríguez, L. E.; Ponce de León, R. H.; González, S. M. L. 2000. Método analítico para la cuantificación de taninos en el extracto acuoso de romerillo. *Revista cubana de plantas medicinales*. 5(1): 17-22.
47. Lauzardo, A. N. H.; Baños, S. B.; del Valle, M. G. V. 2007. Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 30(2): 119-123.
48. Lira-Saldívar, R. H. 2003. Estado actual del conocimiento sobre las propiedades biocidas de la gobernadora [*Larrea tridentata* (DC) Coville]. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21(2): 214-222.
49. López, G. P.; Rodríguez, A. G.; Oyama, K.; Reyes, P. C. 2014. Importancia de la diversidad genética sobre la defensa química de plantas y las comunidades de herbívoros. *Biológicas Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo*. 15(2): 1-8.
50. López, J. I. 2008. Optimización de patrones de cultivo de distritos de riego del noroeste de México. *Revista Chapingo serie zonas áridas*. 7: 157-163.
51. Martínez, S.; Terrazas, E.; Alvarez, T.; Mamani, O.; Vila, J.; Mollinedo, P. 2010. Actividad antifúngica *in vitro* de extractos polares de plantas del género *Baccharis* sobre fitopatógenos. *Revista Boliviana de Química*. 27(1):13-18.
52. Mazuela, Á. P. C. 2013. Agricultura en zonas áridas y semiáridas. *Idesia (Arica)*. 31(2): 3-4.
53. Medrano, F. G. 2012. Las zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación: Plantas útiles e impacto humano en las zonas áridas y semiáridas de México. Instituto Nacional de Ecología. México. 145-156 p.
54. Montoya-Ballesteros, L. C.; Gardea-Béjar, A.; Ayala-Chávez, G. M.; Martínez-Núñez, Y. Y.; Robles-Ozuna L. E. 2010. Capsaicinoides y color en chiltepín (*Capsicum annum* var. *aviculare*): Efecto del proceso sobre salsas y encurtidos. *Revista mexicana de ingeniería química*. 9(2): 197-207.
55. Moreno-Limón, S.; González-Solís, L. N.; Salcedo-Martínez, S. M.; Cárdenas-Ávila, M. L.; Perales-Ramírez, A. 2011. Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* L.) sobre la inhibición *in vitro* de *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp. *Polibotánica*. 32: 193-205.
56. Nava-Pérez, E.; García-Gutiérrez, C.; Camacho-Báez, J. R.; Vázquez-Montoya, E. L. 2012. Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*. 8(3): 17-29.
57. Necha, L. L. B.; Barrera, L. J. G. 2009. Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*). *Revista UDO Agrícola*. 9(1): 175-181.

58. Ochoa , M. J.; Rivera-López, L.; Gómez-Leyva, J. F. 2016. Método de selección en explantes in vitro de *Opuntia* sps. con resistencia a la mancha negra causada por *Pseudocercospora opuntiae*. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 48(1): 21-31.
59. Ortega-Nieblas, M.; Robles-Burgueño, M.; Acedo-Félix, E.; González-León, A.; Morales-Trejo, A.; Vázquez-Moreno, L. 2011. Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano (*Lippia palmeri* S. Wats). Revista fitotecnia mexicana. 34(1): 11-17.
60. Ortega-Rubio, A. 1992. Uso y manejo de los recursos naturales en la Sierra de La Laguna, Baja California Sur. México: Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California Sur. 5: 368 p.
61. Osuna-Carreón, A.; Ail-Catzim, C.; García-López, A. M.; Cruz-Villegas, M.; Troncoso, R. R. 2014. Efecto insecticida de *Pluchea sericea* sobre adultos de *Bemisia tabaci*. Entomología Mexicana. 1: 1018-1021.
62. Oussalah, M.; Callet, S.; Lacroix, M. 2006. Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. J Food Prot. 69: 1046-1055.
63. Pelczar, M. J.; Reid, R. D. 1992. Microbiología. Ed. Pueblo y Educación. La Habana Cuba. 664 p.
64. Peñuelas-Castañeda, O.; Arellano-Gil, M.; Vargas-Arispuro, I. C.; Lares-Villa, F.; Cantú-Soto, E. U.; Hernández-Rodríguez, S. E.; Gutiérrez-Coronado, M. A.; Mungarro-Ibarra, C. 2015. Bioactividad in vitro de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata*) sobre la inhibición de hongos poscosecha: *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Penicillium polonicum* y *Rhizopus oryzae*. Polibotánica. 40: 183-198.
65. Pérez Osorio, P. G. 2003. Efecto de la aplicación de un bactericida natural sobre la incidencia de *Erwinia carotovora* en post cosecha de radicchio variedad coralo R3 . Tesis de licenciatura. Facultad de Agronomía. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Quillota-Chile. 61 p.
66. Pulido-Herrera, A.; Zavaleta-Mejía, E.; Cervantes-Díaz, L.; Grimaldo-Juárez, O. 2012. Alternativas de control en la pudrición radical de cebolla para el Valle de la Trinidad, Baja California. Revista mexicana de ciencias agrícolas. 3(1): 97-112.
67. Rivera-Castañeda, G.; Martínez-Téllez, M. A.; Vallejo-Cohen, S.; Álvarez-Manilla, G.; Vargas-Arispuro, I. D. C.; Moya-Sanz, P.; Primo-Yufera, E. 2001. *In vitro* inhibition of mycelial growth of *Tilletia indica* by extracts of native plants from Sonora, Mexico. Revista Mexicana de Fitopatología. 19(2): 214-217.
68. Rodríguez, H. C. 2002. Plantas contra plagas. Potencial práctico de ajo, anona, nim, chile y tabaco. Ed. RAAPAN. México. 133 p.
69. Rodriguez-Garcia, I.; Cruz-Valenzuela, M. R.; Silva-Espinoza, B. A.; Gonzalez-Aguilar, G. A.; Moctezuma, E.; Gutierrez-Pacheco, M. M.; Tapia-Rodriguez, M. R.; Ortega-Ramirez, L. A.; Ayala-Zavala, J. F. 2016. Oregano (*Lippia graveolens*) essential oil added within pectin edible coatings prevents fungal decay and increases the antioxidant capacity of treated tomatoes. Journal of the Science of Food and Agriculture. 96: 3772-3778.
70. Rodriguez-Maturino, A.; Troncoso-Rojas, R.; Sánchez-Estrada, A.; González-Mendoza, D.; Ruiz-Sanchez, E.; Zamora-Bustillos, R.; Aviles-Marin, M. 2015. Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) en *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. Revista argentina de microbiología. 47(1): 72-77.
71. Rosas-Burgos, E. C.; Cortez-Rocha, M. O.; Cinco-Moroyoqui, F. J.; Robles-Zepeda, R. E.; López-Cervantes, J.; Sánchez-Machado, D. I.; Lares-Villa, F. 2009. Antifungal activity in vitro of *Baccharis glutinosa* and *Ambrosia confertiflora* extracts on *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* and *Fusarium verticillioides*. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 25(12): 2257-2261.
72. Rueda-Puente, E. O.; Hernández-Montiel, L. G.; Holguín-Peña, R. J.; Franciso, H.; López Elías, J.; Huez-López, M. A.; Ortega-García, J. 2014. *Ralstonia solanacearum*: Una enfermedad bacteriana de importancia cuarentenaria en el cultivo de *Solanum tuberosum* L. Rev. INVURNUS. 9(1): 24-36.

73. Sartori, M.; Nesci, A.; Etcheverry, M. 2015. Infección de *Fusarium verticillioides* y contenido de fumonisinas en granos de maíz de plantas con inflorescencias femeninas cubiertas y no cubiertas. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina.* 47(1): 251-261.
74. SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2004. Catálogo de recursos forestales maderables y no maderables. Obtenido de [http://www.conafor.gob.mx/biblioteca/Catalogo\\_de\\_recursos\\_forestales\\_M\\_y\\_N.pdf](http://www.conafor.gob.mx/biblioteca/Catalogo_de_recursos_forestales_M_y_N.pdf). Consultado 15 de octubre 2015.
75. Sepúlveda-Jiménez, G.; Porta-Ducoing, H.; Rocha-Sosa, M. 2003. La participación de metabolitos secundarios en la defensa de plantas. *Revista mexicana de Fitopatología.* 21(3): 354-363.
76. Shiva, R. C. 2007. Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento. Tesis Doctoral. Departamento de Sanidad y Anatomía de Animales. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona. 173 p.
77. SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2016. Obtenido de: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>. Consultado 15 febrero 2016.
78. Soto, M. C. 2003. La agricultura comercial de los distritos de riego en México y su impacto en el desarrollo agrícola. *Investigaciones geográficas.* 50: 173-195.
79. Soyly, S.; Soyly, E. M.; Bozkurt, İ. A.; Kaya, A. D. 2003. Antibacterial activities of essential oils from oregano, thyme, rosemary and lavender plants against *Pseudomonas savastanoi* pv. phaseolicola, the causal agent of halo blight of bean. *Ovidius Univ. Ann. Med. Sci. Pharm.* 1: 40-44.
80. Suárez-Jiménez, G. M.; Cortez-Rocha, M. O.; Rosas-Burgos, E. C.; Burgos-Hernández, A.; Plascencia-Jatomea, M.; Cinco-Moroyoqui, F. J. 2007. Antifungal activity of plant methanolic extracts against *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb, and fumonisin B1 production. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 25(2): 134-142.
81. Tequida-Meneses, M.; Cortez-Rocha, M.; Rosas-Burgos, E. C.; López-Sandoval, S.; Corrales-Maldonado, C. 2002. Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. *Revista iberoamericana de micología.* 19: 84-88.
82. Torres, C. M. 2004. Investigación en la transformación secundaria de fruto, tubérculos, flores y hoja o tallo de especies pertenecientes al ecosistema andino. Informe técnico Jardín botánico. Subdirección de ciencias botánicas. Bogotá D. C. 2-14 p.
83. Valenzuela-Cota, D. F.; Buitimea-Cantúa, G. V.; Rosas-Burgos, E. C.; Cinco-Moroyoqui, F. J.; Yépiz-Gómez, M. S.; Cortez-Rocha, M. O.; Plascencia-Jatomea, M.; Burgos-Hernández, A. 2014. The antifungal effect of *Jacquinia macrocarpa* plant extracts on the growth of *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* and *Fusarium verticillioides*. *Revista Mexicana de Micología.* 39: 2-11.
84. Vargas-Arispuro, I.; Martínez-Téllez, M. A. 1998. Compuestos de plaguicidas obtenidos de plantas de zonas áridas. Trabajo presentado en symposium internacional sobre la utilización y aprovechamiento de la flora silvestre en zonas áridas. Universidad de Sonora. 179-188.
85. Villa, R. A. O.; Bracamonte, S. Á. 2013. Procesos de aprendizaje y modernización productiva en el agro del noroeste de México: Los casos de la agricultura comercial de la Costa de Hermosillo, Sonora y la agricultura orgánica de la zona sur de Baja California Sur. *Estudios fronterizos.* 14(27): 217-254.
86. Villa-Martínez, A.; Pérez-Leal, R.; Morales-Morales, H. A.; Basurto-Sotelo, M.; Soto-Parra, J. M.; Martínez-Escudero E. 2015. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica.* 64(2): 194-205.
87. Walton, N. J.; Brown D. E. 1999. Chemical from plants. perspectives on plants secondary products. Imperial College Press. 160: 1249-1250.
88. Wilson, C. L.; El Ghaouth, A. Y.; Wisniewski, M. E. 1999. Prospecting in nature's storehouse for biopesticides. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 17: 49-53.
89. Wogiatzi, N. E. 2009. Chemical composition and antimicrobial effects of greek *Origanum* species essential oil. *Biotechnol y biotechnol.* 1322 p.

## **Distribution and frequency of *tomato ringspot virus* (ToRSV) in different varieties of *Rubus idaeus* in the Maule Region, Chile**

### **Distribución y frecuencia de *tomato ringspot virus* (ToRSV) en diferentes variedades de *Rubus idaeus* en la Región del Maule, Chile**

Gloria Rossana González Silva <sup>1</sup>, Cynthia Macarena Concha Espinoza <sup>2</sup>,  
Myriam Andrea Valenzuela Bustamante <sup>1</sup>, Luzmira Cecilia Cordero Alday <sup>4</sup>,  
José Newthon Pico Mendoza <sup>3</sup>, Pablo Alfredo Cáceres Ruz <sup>1</sup>, Rolando García González <sup>1</sup>

Originales: *Recepción:* 07/09/2016 - *Aceptación:* 15/03/2017

#### **ABSTRACT**

The raspberry (*Rubus idaeus*) is one of the most important fruit for production in the Maule Region, Chile. Raspberries are affected by the *tomato ringspot virus* (ToRSV), which causes decreased yield and deformed fruit. The objective of this work is to study ToRSV spread in different raspberry varieties in the Maule Region, Chile. The virus was detected using the ELISA test and RT-PCR in the Heritage, Meeker, Chilliwack, Amity and Coho varieties. Bayesian analysis determined the relationship between the percentage of ToRSV incidence in the cultivated varieties and the locations in the different provinces of the Maule Region. It was observed that the Linares province showed the highest levels of the virus in the different varieties: Amity (70%), Meeker (39%) and Heritage (26%), compared to other provinces in the region. These results suggest a high spread of ToRSV through the Maule Region. Nei distance analysis suggests that 14 of the virus isolates coming from the Talca and Linares Provinces would show differences with the ToRSV accessions deposited in the global gene bank (NCBI).

#### **Keywords**

ToRSV • *Rubus idaeus* • disease • spread • incidence • Maule • Chile

- 
- 1 Center of Biotechnology for Natural Resources (CenBIO), Faculty of Agricultural Sciences and Forestry. Universidad Católica del Maule, Avenida San Miguel N° 3605, Talca. Chile. ggonzalez@ucm.cl
  - 2 School of Forestry Engineering, Faculty of Agricultural Sciences and Forestry. Universidad Católica del Maule, Avenida San Miguel N° 3605, Talca. Chile.
  - 3 Technical University of Manabí, Faculty of Agricultural Engineering, Lodana. Manabí, Ecuador.
  - 4 Center for Studies in Processed Foods (CEAP), National Commission for Scientific and Technological Research (CONICYT)-Regional, Gore Maule, Talca, Chile.

## RESUMEN

La frambuesa (*Rubus idaeus*) es un frutal menor de gran importancia productiva en Chile. Una de las enfermedades que lo afectan es *tomato ringspot virus* (ToRSV). Este estudio provee información sobre la dispersión de ToRSV en diferentes variedades de frambueso en la Región del Maule. El virus fue detectado mediante el uso de la prueba ELISA y RT-PCR en las variedades Heritage, Meeker, Chilliwack, Amity y Coho. Mediante un análisis Bayesiano se determinó la relación entre porcentaje de incidencia de ToRSV en las variedades cultivadas y las localidades, de las distintas Provincias de la Región. Se observó que la provincia de Linares presentó la más alta incidencia viral en Amity (70%), Meeker (39%) y Heritage (26%), con respecto a otras provincias de la Región. Estos resultados sugieren que existe una alta dispersión de ToRSV a través de la Región del Maule. El análisis de distancia de Nei propone que los 14 aislados del virus provenientes desde las Provincias de Talca y Linares, mostrarían diferencias con las accesiones de ToRSV depositadas en el banco de genes mundial (NCBI).

### Palabras claves

ToRSV • *Rubus idaeus* • dispersión • incidencia • Maule • Chile

## INTRODUCTION

In the 1980's, cultivation of raspberry (*Rubus idaeus*) began in Chile, with a distribution ranging from the the Valparaiso Region to the Los Lagos Region (7). At present, the crops of this species occupy an area of 10,000 hectares, ranking second nationally among berries being grown in Chile (43%), and positioning the raspberry as the fruit with the most progress, represented predominantly by varieties such as: Heritage (81%), Meeker (15%), and Chilliwack (3%) (11).

Located in the central zone of the Chile, the Maule Region is characterized as an excellent agricultural area, ranking first nationally in the production of apples, kiwis, tomatoes, beets, rice, hazelnut, and smaller fruits such as raspberries, representing 81% of the total area, with 57% of the Maule Region (9, 22). Despite the productivity of this crop, the production has been affected due to the plantations being established with etiolated shoots, which

facilitate the spread of pathogens and have lowered raspberry yield to 4 t/ha in Chile. These results are very low in comparison to other countries such as Mexico, the United States and England-Scotland, where the yields rise up to 15 t/ha which may suggest that there are viral pathogenic factors, which may be affecting the production of this fruit (11, 18).

Certain pathogens, such as viruses, viroids, and phytoplasmas, can spread easily through these types of plants, resulting in a high degree of infection in raspberry plants. These infections represent one of the main problems causing decreased production, affecting farmers economically and, consequently, the quality of the harvested fruit (18).

Globally, it has been reported that more than 30 viruses and probable viral agents are infecting the *Rubus* species, including the major *Rubus idaeus* varieties (15). One of the leading viral diseases that affect

raspberry plants is the *tomato ringspot virus* (ToRSV), a member of the genus *Nepovirus*, and *Secoviridae* family (24). Characteristic symptoms of the disease are marked rings and chlorotic designs. Whitening of veins that usually occurs during the spring and tends to disappear during the summer is common in plants that often don't show symptoms, but have low vigor or performance. As well as this the presence of deformed fruit is also observed (12).

Medina *et al.* (2006), more than a decade ago, samples were collected from the Maule Region that indicated that the virus is present in orchards from the Linares Province. The high incidence detected, is probably associated to a certain extent with the *Xiphinema* species (29).

The territory of Chile is divided into three different administrative levels: regions, provinces or communes corresponding to the first-, second- and third-level administrative divisions. Currently there is little information about the dispersion across regions, provinces, communes and cities in the Maule Region as well as the frequency of ToRSV occurrences in the different varieties that are currently grown. It is for this reason that the main aim of this research is to study the distribution and frequency of the virus, in the different varieties of *Rubus idaeus* that are currently cultivated in the Maule Region, and at the same time, observe the genetic distance between the local ToRSV nucleotide sequences, var. Heritage, with those already annexed in the global gene bank.

## MATERIALS AND METHODS

### Sampling

The collection of plant material was carried out in three provinces of the Maule of Región: Curicó, Talca, and Linares in

zones that are recognized as *Rubus idaeus* production zones. Collection took place during the 2011-2014 seasons, at different commercial orchards ranging from the La Montaña sector in the north of the study zone, (34°58'34.905 N, 70°52'13.13" W) to the Andean zone of Parral in the south of the study zone (36°09'50.98 S, 71°44'05.16" W).

The sampling process was completely random, during the months of October and December of each season. The samples were collected from plants that had actively growing sprouts, with ages fluctuating between 3 months to 15 years old. Approximately 37 ha were visited across the region, with Heritage, Meeker, Chilliwack, Amity, and Coho being the most common regional varieties.

The number of samples collected was 30 (4 replicates) per hectare. Sample selection was focused on tissue with characteristic symptoms of infection, but mostly (98%) asymptomatic plant material with viral presence was also collected. Once collected, the samples were put on ice and transported in plastic bags, which were subsequently stored at -80°C until processing was carried out.

### Viral Identification

#### ELISA Testing

A double-antibody sandwich ELISA (DAS-ELISA) was used to detect tomato ringspot virus (ToRSV), using the manufacturer's recommended protocol (Agdia, USA). Samples were measured with the RT-2100C Rayto Microplate reader from Germany. A reading was considered positive when the OD<sub>405</sub> optical density values were greater than twice the value obtained in the negative control. To determine levels of incidence of ToRSV infection at a location, the total number of positive samples with respect to the total number of samples collected was calculated.

**RT-PCR for determination of ToRSV***Extraction of RNA from Rubus idaeus*

Total nucleic acids were extracted from 200 mg of leaves of *Rubus idaeus*, which were placed in 2.0 ml Labcon Petaluma, California (USA) microtubes and supplemented with a Bertin Technologies (France) 1.4 mm Zirconium bulk bead. The extraction was performed based on the protocol suggested by Chang *et al.* (1993). For grinding, Precellys 24, Bertin Technologies (France) equipment was used at 5500 rpm, with three cycles of 30 seconds and a Cryollys Bertin (France) cooling system. The visualization of RNA was performed over 1% (w/v) agarose gels in TAE 1X buffer, with each well containing 2  $\mu$ l of the samples. Loading buffer supplemented with Biotium (USA) GelRed™ was then added to the wells. Each RNA sample was treated with DNase digestion enzyme (Invitrogen) according to manufacturer's recommendations.

**RT-PCR for determination of ToRSV**

The first strand of cDNA thermoscrip was synthesized by SuperScript® III One-Step RT-PCR System with Platinum® Taq DNA Polymerase (Invitrogen), carried out according to the manufacturer's recommendations. Testing of primers was performed with 18S internal control (6). Subsequently, ToRSV detection was performed using U1 and D1 primers, as described by Griesbach (1995). PCR reactions were carried out in the Life Express (China) thermal cycler. The reaction products were determined by agarose gel electrophoresis (2%, w/v) using a 1X TAE buffer supplemented with Biotium (USA) GelRed™ in order to view them under ultraviolet light.

**Statistical Analysis**

In the collated data, the presence or absence of the virus was indicated by incidence porcentaje (%). Kruskal Wallis Bayesian analysis was performed using the 2014 InfoStat biometric statistical software from the National University of Cordoba (FCA-UNC), Argentina (4). The analysis determined relationships between the independent variables of province, commune, and town with respect to the incidence of ToRSV in different raspberry varieties (Coho, Meeker, Heritage, Chilliwack, and Amity) in the Maule Region of Chile. The level of significance was determined to be ( $p \leq 0.05$ ).

**Sequencing and genetic distance**

DNA amplicons obtained by RT-PCR were cloned using a StrataClone PCR Cloning kit in accordance with the manufacturer's instructions, and sequenced bidirectionally by Macrogen Company Inc. (Seoul, Korea). The nucleotide sequences obtained were analyzed with the program Geneious R6 (Biomatters Ltd., New Zealand) along with the BLAST 2,225 Basic Local Alignment Search Tool from the National Center for Biotechnology Information (NCBI) (USA) in order to determine the sequence homology, when compared with the NCBI. Cluster analysis was carried out using the Tamura Nei genetic distance and the Dendrogram was built with Neighbor-Joining method, using a sequence outgroup for comparison. For both previously mentioned analyses, the same program was used.

## RESULTS

### *Disease symptoms*

Of all the collected varieties in the field, only a small percentage (1.25%) of the sampled plants presented viral symptoms. In plants between 9-15 years of age, an increase of fused interveinal yellow regions (figure 1A), and non-commercial deformed fruits (figure 1B) was observed. In the orchards, the Heritage variety plant with an age of between 12 and 15 years old presented more intense symptoms, with less foliage and decreased plant height (Figure 1B). In the case of asymptomatic plants, which constituted the largest percentage of the sample (98.75%), there were no observed differences between them and the plants that tested and were found to be ToRSV free (figure 1C).

### *ELISA and RT-PCR for viral identification*

For all the *Rubus idaeus* samples analyzed by ELISA for the detection of ToRSV in Heritage, Meeker, Amity, Chilliwack, and Coho varieties, it was observed that the values of optical density ( $DO_{405nm}$ ) in the positive and negative controls were 2.9 and 0.5 respectively, while the plant material with positive response to infection presented a  $DO_{405nm}$   $2 \pm 0.7$ , after 1 hour of the hydrolyzed substrate. Among the collections, most of the raspberry plants that presented as asymptomatic with a positive test for ToRSV had the same  $DO_{405nm}$  as the positive control. This was the case for all plants in the age range between 3 months to 15 years old. The presence of ToRSV was confirmed by RT-PCR in all varieties that were tested by ELISA. The resulting amplicons showed a DNA fragment of 449 bp, with a fragment of 860 bp corresponding to the internal control 18S rRNA (6, 8).



**Figure 1.** Symptoms ToRSV in raspberry leaves and fruits. Yellowing presence of primary and secondary veins in 3 and 12 year old plants of the Meeker (1A) and Heritage (1B) varieties. 1C, regrowth asymptomatic plant of 5 year old, variety Meeker.

**Figura 1.** Síntomas de ToRSV en hojas y frutos de frambueso. Presencia de amarillamiento en venas secundarias y terciarias en plantas de 3 y 12 años de edad, variedades Meeker (1A) y Heritage (1B). 1C, rebrotes asintomático en plantas de 5 años, variedad Meeker.

### **ToRSV incidence analysis in *Rubus idaeus*, Maule Region**

#### *ToRSV incidence by town and commune*

The incidence of ToRSV studied throughout the Maule Region showed significant differences ( $p \leq 0.001$ ) between the towns dedicated to raspberry cultivation in the various provinces of the region.

In those located in the north of the region, the significant differences are reflected in figure 2A (page 149), noting that 59% of viral infection corresponds to the Amity plant variety located in the town of La Montaña, Teno commune, Curico Province. In the same town the occurrence of the virus is the lowest with a 2% in the Heritage variety.

The towns of Buena Paz and Pichingal (Molina commune) located further south in the Curico Province, showed that Buena Paz had an incidence of 33% for both Coho and Heritage varieties, while in Pichingal the Heritage variety reached 11%.

On the other hand, the villages of the San Clemente and Rio Claro communes (Talca Province) demonstrate significant differences when being compared ( $p \leq 0.005$ ). These differences occur in the towns of La Calor and Corralones (San Clemente commune), where viral incidence reached 31% and 20% respectively in the Heritage variety. Chilliwack presented 27% viral presence in Corralones, but the lowest percentage was in the town of Cumpeo (Rio Claro commune), with 9% incidence in the Heritage variety (figure 2B, page 149).

The towns of Bramadero (San Clemente commune) and Santa Rosa (Rio Claro commune) did not show viral infection in the Heritage variety (figure 2B, page 149). A similar pattern is observed when analyzing the towns belonging to the Linares commune (Linares Province), where significant differences ( $p \leq 0.001$ )

were established in the town of St. Victor Álamo. Here, the Heritage variety had the highest viral incidence at 80%, while Meeker showed an incidence of 52%, followed by Coho with 7% (figure 2C, page 150).

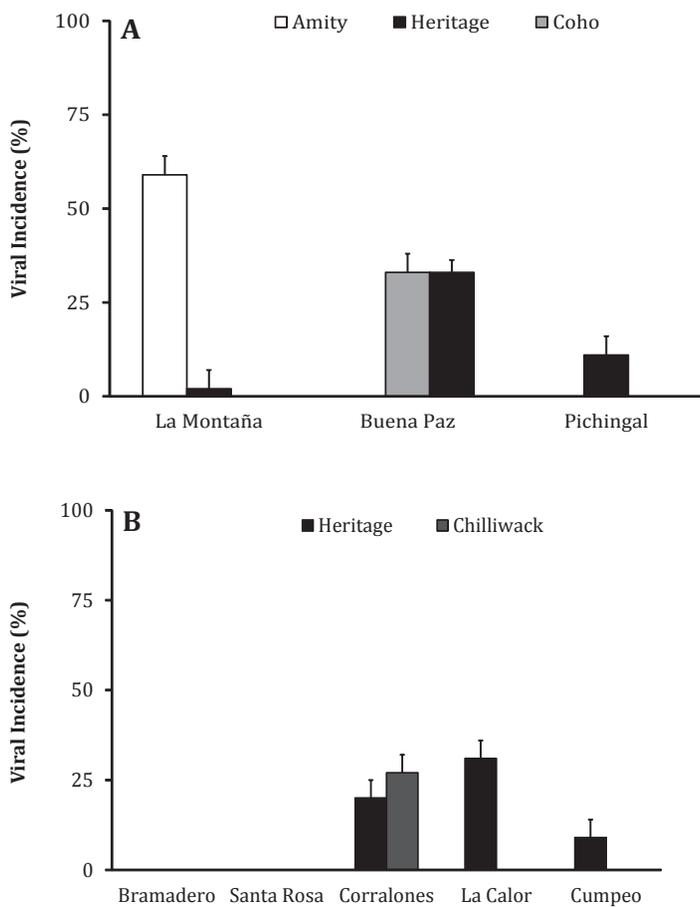
In the town of San Antonio Encina the incidence reached 70% in the Amity variety, unlike the Meeker and Heritage varieties that only reached 27% and 10%, respectively (figure 2C, page 150). Within the same province, the town of Santa María de Arquén, (Yerbas Buenas commune), and the town of Los Carros (Parral commune) reached only 7% and 8%, respectively, in the Heritage variety. The town of Santa Elena showed no viral incidence in the Heritage variety (figure 2C, page 150).

### **Analysis of viral incidence (%) in the Maule Region**

The *Rubus idaeus*-ToRSV analysis carried out for the data from various provinces of the Maule Region presented significant differences ( $p \leq 0.001$ ) between the varieties studied. This significance was set according to what was found in the Linares Province, where the Amity variety presented a remarkable viral incidence of 70%, while in Curicó, only 53% of the sampled plants presented the virus (figure 3, page 150). Within the Talca Province, no plantations or remnants of this variety were found.

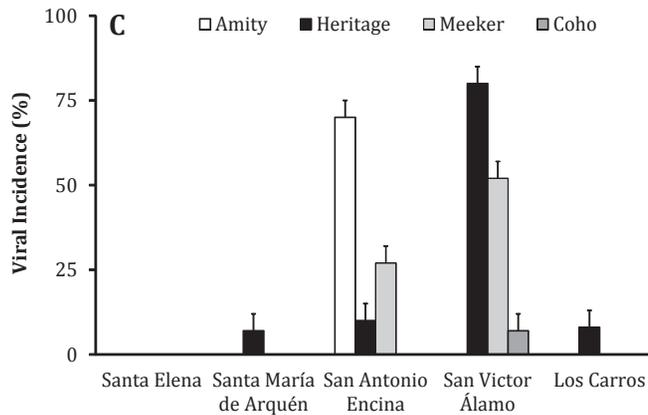
The Heritage variety present in the Linares, Talca, and Curicó provinces show a 26%, 11% and 9% incidence, respectively. The Chilliwack variety is only present in the Talca Province, and shows an incidence of 27%.

The Coho variety has a lower incidence in the province of Linares (7%), contrasted with the Curicó Province, where viral incidence was higher (33%).



**Figure 2.** Incidence Percentage (%) of ToRSV in different varieties of *Rubus idaeus* in towns in the Maule Region of Chile. **A:** Towns La Montaña, Buena Paz and Pichingal, Teno and Molina communes, Curicó Province **B:** Towns Santa Rosa, Cumpeo, Bramadero, Corralones and La Calor, Río Claro and San Clemente communes, Talca Province. **C:** San Antonio Encina, San Víctor Álamo, Santa María de Arquén, Santa Elena, Los Carros, Yervas Buenas, Parral and Linares communes, Linares Province.

**Figura 2.** Porcentaje de incidencia (%) de ToRSV en diferentes variedades de *Rubus idaeus*, Región del Maule, Chile. **A:** localidades de Comunas La Montaña, Buena Paz y Pichingal de Teno y Molina, Provincia de Curicó. **B:** localidades de Santa Rosa, Cumpeo, Bramadero, Corralones y La Calor, Comuna de Río Claro y San Clemente, Provincia de Talca. **C:** localidades de San Antonio Encina, San Víctor Álamo, Santa María de Arquén, Santa Elena, Los Carros, Yervas Buenas y Parral, Comuna de Linares, Provincia de Linares.



**Figure 2 (cont.).** Incidence Percentage (%) of ToRSV in different varieties of *Rubus idaeus* in towns in the Maule Region of Chile. **A:** Towns La Montaña, Buena Paz and Pichingal, Teno and Molina communes, Curicó Province **B:** Towns Santa Rosa, Cumpeo, Bramadero, Corralones and La Calor, Río Claro and San Clemente communes, Talca Province. **C:** San Antonio Encina, San Victor Álamo, Santa María de Arquén, Santa Elena, Los Carros, Yervas Buenas, Parral and Linares communes, Linares Province.

**Figura 2 (cont.).** Porcentaje de incidencia (%) de ToRSV en diferentes variedades de *Rubus idaeus*, Región del Maule, Chile. A: localidades de Comunas La Montaña, Buena Paz y Pichingal de Teno y Molina, Provincia de Curicó. B: localidades de Santa Rosa, Cumpeo, Bramadero, Corralones y La Calor, Comuna de Río Claro y San Clemente, Provincia de Talca. **C:** localidades de San Antonio Encina, San Victor Álamo, Santa María de Arquén, Santa Elena, Los Carros, Yervas Buenas y Parral, Comuna de Linares, Provincia de Linares.



**Figure 3.** Incidence of ToRSV in different varieties of *Rubus idaeus* in the Province of Curico, Talca and Linares, in the Maule Region, Chile.

**Figure 3.** Incidencia de ToRSV en distintas variedades de *Rubus idaeus* en la Provincia de Curicó, Talca y Linares de la Región del Maule, Chile.

The orchards with the Meeker variety were found only in the Linares Province, and reached 39% viral incidence (figure 3, page 150).

#### **Analysis of genetic distance**

The ToRSV isolates in this study had 82-94% sequence identity, compared with other accessions of NCBI.

The genetic distance analysis based on a matrix of Nei's compared 14 accessions of ToRSV of *Rubus idaeus*, Heritage variety in the Maule Region (figure 4, page 152). KP759300.1, KX507374 and KX507375 belonging to the locality of La Calor, San Clemente; KP759299.1, KX529874, KX529883, KX529881, KX529862, KX529864, KX529861, KX529863, KX529875, KX529867 and KX529865 found in the locality of San Victor Alamo, in the commune of Linares with 7 accessions KM083894.1, DQ641947.1 and GQ141526.1 (*tomato ringspot virus* isolates, raspberries host), GQ141528.1 and GQ141527.1 (*tomato ringspot virus* isolate, blueberry host), KM083892.1 and AF135407.1 (*tomato ringspot virus* isolate, grapewine host).

Two differentiated clusters were observed, the first (A) closer to the majority of the NCBI sequences and the accessions KP759300.1 and KP759299.1 (this study). It is also observed that in A, there is a 31.7% of distance between the accessions KM083892.1 and AF135407.1 regarding the rest of the cluster, while KP50300.1 takes distance in a 21.1% from the accessions DQ641947.1, GQ141528.1, KM083894.1 and KP759299. These last two accessions have a 14% of distance among them, with strawberry plants being the host of both of them.

The second cluster (B), gathers 12 ToRSV sequences coming from the localities of La calor and San Victor

Alamo. Within the cluster, the accessions KX529862, KX529864, KX529861, KX529863, KX529875, KX529867, KX529865, KX507374 and KX507375 present a closeness of 91%, regarding KX29883 and KX529881.

In the main node of cluster B, the accession KX529874 was observed with a 15% of distance regarding the others.

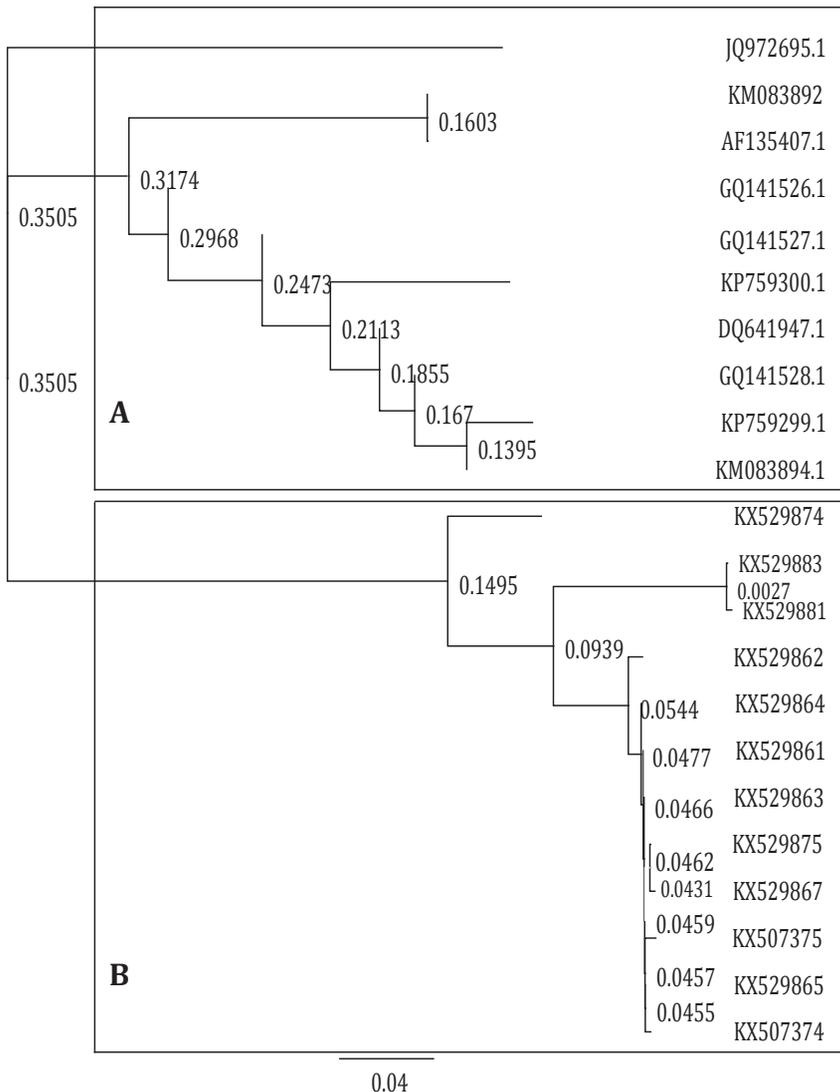
#### **DISCUSSION**

ToRSV is one of the viruses that were detected in Chile in the eighties, which presence was found to be associated with both the leaves and seeds of the red raspberry crop (1). Subsequent surveys found the virus to be present in the south-central part of the country, in smaller fruits such as raspberries, red currants, and blueberries (17).

In raspberries, the presence of a viral infection is reflected in a number of characteristic symptoms that range from a decrease of the total growth in infected plants, to leaves with interveinal yellowing and chlorotic rings, and fruit presenting a shelling of the berry (16).

The presence of this final symptom at the time of harvest determines if the final product will be used for juice production or frozen, therefore decreasing the probability of obtaining a market price as high as that received for a fresh product (10, 12).

In this study, it was found that 98.75% of the plants were asymptomatic to the viral presence, and plants with viral signs were consistent with those found in other studies, such as Medina *et al.*, (2006).



Let A and B indicate differentiated clusters.

Letras A, B indican agrupamientos diferenciados.

**Figure 4.** Neighbor-joining dendrogram built with accessions KM083894.1, DQ641947.1, GQ141526.1, GQ141528.1, GQ141527.1, KM083892.1 and AF135407.1 and tomato ringspot virus (ToRSV) local sequences, from *Rubus idaeus* plant var. Heritage, of the Maule Region.

**Figura 4.** Dendrograma Neighbor-joining construido con accesiones KM083894.1, DQ641947.1, GQ141526.1, GQ141528.1, GQ141527.1, KM083892.1 y AF135407.1 y secuencias locales de tomate ringspot virus ToRSV, obtenidas desde plantas de *Rubus idaeus* var. Heritage, de la Región del Maule.

An interesting field observation made during this study was the presence of plants with bright yellow interveins that faded when approaching the venal sectors of raspberry leaves. In this study, it was observed that the RT-PCR technique was efficient for detection of the virus in the different varieties studied (Heritage, Meeker, Coho, Amity, and Chilliwack), but it's important to consider more sensitive techniques due to the possibility that other isolates of the virus could be found present in the region but have not been included in this study (23, 30). In this sense, qRT-PCR, or TaqMan RT-PCR techniques are a necessary alternative to increase the sensitivity and efficiency of identification in future studies (8, 14, 19, 25, 26, 27).

The presence of ToRSV has been found to be related to multiple species, one of them being the raspberry (5, 20).

In the Maule Region, the manifestation of the virus has been associated with the infection of *Rubus idaeus* throughout the Andes, reaching towns that are in the far north of the region (the communes of Teno and Molina in the Curicó Province), all of which presented ToRSV.

In the town of La Montaña, there was a marked increase of the virus in the Amity variety but not in the Heritage variety, even though both samples belonged to the same orchard.

In the villages of the Rio Claro and San Clemente communes (Talca Province) the predominant variety was again Heritage, but in this case two locations showed no infection (Santa Rosa and Bramadero), which is also similar to the town of Santa Elena for the same variety (Yerbas Buenas commune).

In the southernmost communes of the region, such as Yerbas Buenas, Linares, and Parral, there is a high viral incidence for most of the sampled localities, a condition that has increased over time

from previous studies. Medina (2006) obtained similar incidence levels to those found in this study, but did not describe the varieties evaluated. In a similar way, observations from marked plants were collected in the town of St. Victor Álamo during the 2012-2013 season.

In this paper, the progress of ToRSV infection was detected in raspberry leaves (Heritage), showing a 73.1% incidence during the first season, and reaching 100% incidence in the second season evaluated (date not presented). Despite its age (12 years), the orchard studied, like most visited orchards across the region, did not show the characteristic symptoms of infection, remaining 98.75% asymptomatic. This finding makes managing disinfection in the field more difficult, due to the high spread of the virus and the uncertainty conditions in the detection of symptomatic plants.

Periodic checks would allow one to determine whether the orchard is infected with the virus and help control the infection. This is different from previous studies, which observe reduced growth in infected raspberry plants and a very slow dispersion in the field limited to a few meters of plants adjacent to the focal point of the infection (21).

Such results reveal that the spread of the virus is very dynamic in the field, which could be due to everyday maintenance tasks for fruit management, such as weeds that can be a reservoir of the virus, crop cleanup tools that carry land with potential nematodes, poor water management which, added to a (primary and secondary) woody perennial root system, easily allows the attraction of virus vectors since they don't have to travel long distances to feed (20).

One of the vectors that transmits ToRSV is *Xiphinema americanum*, which attaches

to the roots of the raspberry plant without causing major damage (5). It is probable that this vector is not present, or the prevalence is very low in the localities that are in the far north of the region such as in the Teno and Molina communes in the Curicó Province. This is different to the southern most communes in areas such as Linares, where it is possible that populations of *Xiphinema* sp exist. This agrees with our results because these localities present the highest percentage of infection by ToRSV. In the Maule Region, *Rubus idaeus* has been presented as one of the fruits affected by ToRSV (17). In this study, varieties collected in various provinces showed that Coho, Meeker, Chilliwack, Heritage, and Amity all possess the virus.

The Amity variety having the highest viral incidence throughout the region, followed by Meeker, Coho, Chilliwack, and Heritage. This situation is interesting because looking at the total planting areas of the varieties presented, Heritage covers the largest area both regionally and nationally (11).

Furthermore, in the samples collected, Heritage is always the predominant variety in the various towns, which raises two possible questions: 1) Is Amity more susceptible to ToRSV infection, or is Heritage more tolerant? Or, 2) are the soils from the sampled orchards infested? Infection assays could give us an answer to this question in the future. On the other hand, the regional analysis of ToRSV-raspberry interaction shows that the province with the highest viral presence is Linares, followed by Curicó, and finally, Talca. It is likely that the presence of the virus and its prevalence is due to the fact that most older orchards belong to the Linares Province, so the fields were infested many years ago with nematode vectors that added to the ancient practices

of self-propagation of plant material, and could have generated a vicious circle of transfer continuous raspberry-nematode, nematode-raspberry, which ultimately increased the viral load in the region.

Raspberry production in the Maule Region is linked to small farmers where mechanization is difficult to access.

For years the practice of self-propagation of contaminated material and/or buying plants from nurseries with no certificates was a reality within of the Region. In recent years, this situation has changed marginally due to regional development through programs such as INDAP, which allow the gradual acquisition of new plants, leading to a slow renewal of orchards. However, even these initiatives have not had a sufficiently high influence to control viral dispersion (10). Most raspberry producers of the Maule Region get virus-free plant material originating from different nurseries in the region but, with checks made over time, it was found that the plants eventually acquired the virus.

In this research, we detected plantations that at one year of orchard establishment, with the varieties of Heritage and Coho, presented a ToRSV incidence of 3.2% to 6%, respectively. This suggests that the spread of the virus is probably due to inefficient propagation techniques, making it necessary for meristems *in vitro* cultures to be checked with greater persistence using molecular tools such as qRT-PCR and Taqman probes, which would provide a more reliable certification system in the early stages of the explants (13, 25, 26).

On the other hand, a different alternative is also feasible. Since there is a more pronounced and widespread presence of what is believed to be group *Xiphinema americanun* throughout the soils of the Chile, for this reason, it is

suggested that a study be carried out on the presence of the vector (2).

The isolates obtained from putative ToRSV viral polymerase of this study with the primers described by Griesbach (1995) showed high efficiency in detection for all varieties of raspberry analyzed in the Maule Region.

The verification of the information obtained through the cloning of the fragments by RT-PCR, was observed when comparing the amplicons with accessions deposited in the gene bank.

The accessions found in this study, possess a high genetic distance with those deposited in the gene bank, whereas cluster B is the one that presents a greater difference with respect to all the other accessions studied. Is it possible that these differences are due to some type of mutation or adaptation to the country? In this regard, further studies would be required to elucidate the genetic variability of ToRSV isolates that involve

gene encodings for RNA2, RNA-1, or other sectors, in order to facilitate a study that can help better understand the nature of the virus both in the Maule Region in Chile, and throughout the world (5, 27).

## CONCLUSIONS

Finally, *Rubus idaeus*, one of the most important berries in the Maule presented ToRSV infection in the different varieties studied, but most plants were asymptomatic of the virus, with the Linares Province presenting the higher viral incidence percentage. Our results suggest a need to test routinely in *Rubus idaeus* orchards, because there is an increase of the virus in the Maule Region from past studies. Furthermore, sequence analysis of ToRSV indicate that differences exist in some isolates found in Chile compared with other ToRSV isolates from other parts of the world.

## REFERENCES

1. Auger, J.; Converse, R. H. 1982. Raspberry bushy dwarf and tomato ringspot viruses in Chilean red raspberries. *Acta Hort.* (ISHS). 129: 9-10.
2. Auger, J.; Leal, G.; Magunacelaya, J. C.; Esterio, E. 2009. *Xiphinema rivesi* from Chile Transmits tomato ringspot virus to Cucumber. *Plant Disease.* 93(9): 971-971.
3. Chang, S.; Puryear, J.; Cairney, J. 1993. A Simple and Efficient Method for Isolating RNA from Pine Trees *Plant Molecular Biology.* *Plant Molecular Biology Reporter.* 11(2): 113-116.
4. Di Rienzo, J. A.; Casanoves, F.; Balzarini, M. G.; González, L.; Tablada, M.; Robledo, C. W. 2014. InfoStat version 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Available in: <http://www.infostat.com.ar>.
5. Fuchs, M.; Abawi, G.; Marsella-Herrick, P.; Cox, R.; Cox, K.; Carroll, J.; Martin, R. 2010. Occurrence of *tomato ringspot virus* and *Tobacco ringspot virus* in highbush blueberry in New York State. *Journal of Plant Pathology.* 92(2): 451-459.
6. Gambino, G.; Gribaudo, I. 2006. Simultaneous detection of nine grapevine viruses by multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction with coamplification of a plant RNA as Internal Control. *Phytopathology.* 96(11): 1223-1229.
7. González, M.; Céspedes M. 2010. Manual de producción de frambuesa orgánica. Boletín INIA. Instituto de investigación agropecuaria, Chillán. Chile. 88p.
8. Griesbach, J. 1995. Tomato ringspot virus by polymerase chain reaction. *Plant disease.* 79(10): 1054-1056.
9. Guerrero C., J.; Meriño-Gergichevich, C.; Ogass C., K.; Alvarado N., C.; Sobarzo M., V. 2015. Características de calidad y condición de frutos de avellano europeo (*Corylus avellana* L.) cv. Barcelona en la zona centro-sur de Chile. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias.* Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 47(2): 1-14.

10. Instituto Nacional de Desarrollo Agropecuario (INDAP). 2007. Plan nacional de competitividad de frambuesa de exportación para la agricultura familiar campesina. División de Fomento. Gobierno de Chile. Ministerio de Agricultura.
11. International raspberry organization (IRO). 2015. Available in: <http://www.internationalraspberry.net/home>. Accessed august 2016.
12. Latorre, B. 2004. Enfermedades de las plantas cultivadas. Ediciones Universidad Católica de Chile. 638.
13. Levitus, G.; Echenique, V.; Rubinstein, C.; Hopp, E.; Mrogi, L. 2010. Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II. Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina.
14. Martin, P.; Pinkerton, J.; Kraus, J. 2009. The use of collagenase to improve the detection of plant viruses in vector nematodes by RT-PCR, *Journal of Virological Methods*. 155(1), 91-95.
15. Martin, P.; MacFarlane, S.; Sabanadzovic, S.; Quito, D.; Poudel, B.; Tzanetakis, I.E. 2013. Plant Viruses and Virus Diseases of *Rubus*. *Disease*. 97(2): 168-182.
16. Martin, R.; Polashock, J. J.; Tzanetakis, I.E. 2012. New and Emerging Viruses of Blueberry and Cranberry. *Viruses*, 4: 2831-2852.
17. Medina, C.; Matus, J. T.; Zúñiga, M.; San-Martín, C.; Arce-Johnson, P. 2006. Occurrence and distribution of viruses in commercial plantings of *Rubus*, *Ribes* and *Vaccinium* species in Chile. *Cien. Inv. Agr.* 33(1): 23-28.
18. Morales, C.; González, M. I.; Hirzel, J.; Riquelme, J.; Herrera, G.; Madariaga, M.; France, A.; Devotto, L.; Gerding, M.; Pedreros, A.; Uribe, H.; San Martin, J. 2009. Aspectos relevantes en la producción de frambuesa (*Rubus idaeus* L.). *Boletín INIA*. 192: 118.
19. Osman, F.; Leutnegger, C.; Golino, D.; Rowhani, A. 2008. Comparison of low-density arrays, RT-PCR and real-time TaqMan RT-PCR in detection of grapevine viruses. *J. Virol. Methods*. 149: 292-299.
20. Pinkerton, J.; Martin, R. 2005. Management of Tomato ringspot virus in red raspberry with Crop Rotation *International Journal of Fruit Science* Vol. 5: 3.
21. Pinkerton, J.N.; Kraus, J.; Martin, R.R.; Schreiner, R.P. 2008. Epidemiology of *Xiphinema americanum* and tomato ringspot virus on red raspberry, *Rubus idaeus*. *Plant Dis.* 92: 364-371.
22. Programa de mejoramiento de la Competitividad (PMC). 2009. Available in: [http://centrodecompetitividaddelmaule.atalca.cl/pdf/cluster\\_potenciales/Cluster\\_Frambuesa.pdf](http://centrodecompetitividaddelmaule.atalca.cl/pdf/cluster_potenciales/Cluster_Frambuesa.pdf). Accessed July 2016.
23. Samuitiené, M.; Zitikaite, I.; Navalinskiene, M.; Valiūnas, D. 2003. Identification of tomato Ringspot nepovirus by RT-PCR. *Biologia*. 4: 35-38.
24. Sanfaçon, H.; Wellink, S.; Le Gall, O.; Karasev, A.; Van Der Vlugt, R.; Wetzel, T. 2009. Secoviridae: a proposed family of plant viruses within the order *Picornavirales* that combines the families *Sequiviridae* and *Comoviridae*, the unassigned genera *Cheravirus* and *Sadwavirus*, and the proposed genus *Torradovirus*. *Arch. Virol.* 154: 899-907.
25. Stewart, E. L.; Qu, X.; Overton, B. E.; Gildow, F. E.; Wenner, N. G.; Grove, D. S. 2007. Development of a real-time RT-PCR SYBR green assay for tomato ring spot virus in grape. *Plant Disease*. 91: 1083-1088.
26. Tang, J.; Khan, S.; Delmiglio, C.; Ward, L.I. 2014. Sensitive detection of tomato ringspot virus by real-time TaqManRT-PCR targeting the highly conserved 3'-UTR region. *Journal of Virological Methods*. 201: 38-43.
27. Rivera, L.; Zamorano, A.; Fiore, N. 2016. Genetic divergence of tomato ringspot virus. *Archives of Virology*. 161: 1395-1399.
28. Wang, A.; Sanfaçon, H. 2000. Diversity in the coding regions for the coatprotein, VPg, protease, and putative RNA-dependent RNA polymerase among tomato ringspot nepovirus isolates. *Can. J. Plant Pathol.* 22: 145-149.
29. Wang, S.; Gergerich, R. C.; Wickizer, S. L.; Kim, K. 2002. Localization of transmissible and nontransmissible viruses in the vector nematode *Xiphinema americanum*. *Phytopathology*. 92: 646-653.
30. Zitikaitė, I.; Staniulis, J. 2006. The use RT-PCR for detection of viruses infecting cucumber. *Agronomy Research*. 4: 471-476.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to give thanks for the support provided for FONDECYT project No. 11121394 for the financing provided in order to carry out this research.

## **Efecto del tratamiento térmico sobre la presencia de virus en bulbos de ajo (*Allium sativum* L.).**

### **Effect of thermic treatment on the presence of virus in garlic (*Allium sativum* L.) bulbs.**

Rodolfo Velásquez-Valle <sup>1</sup>, Manuel Reveles-Hernández <sup>1</sup>, Yasmín Ileana Chew- Medinaveitia <sup>2</sup>, Luis Roberto Reveles-Torres <sup>1</sup>

Originales: *Recepción: 29/04/2015 - Aceptación: 23/05/2016*

#### **RESUMEN**

Se evaluó la presencia de virus en bulbos de 24 variedades de ajo antes y después de ser termo tratadas usando la técnica serológica DAS-ELISA para los virus TEV, SLV, GarCLV, OYDV y LYSV. Los bulbos de ajo fueron expuestos a temperatura de  $33 \pm 1^\circ\text{C}$  durante un período de seis semanas. Después del tratamiento térmico, 23 variedades tenían al menos un virus, sin embargo, ninguno de los cinco virus fue detectado en los bulbillos de la variedad Español, también, la variedad ChJO 13 fue positiva solamente a TEV. TEV fue el virus más persistente a través del tratamiento térmico. Independientemente del virus o variedad, el porcentaje de bulbillos positivos virus fue de 53,5 y 45,1% antes y después del tratamiento térmico respectivamente. La mayoría de los bulbillos mostró infecciones múltiples en diversas combinaciones. Solamente TEV y SLV aparecieron en infecciones simples o con un solo agente viral; después del tratamiento térmico solo el TEV conservó esta característica. La concentración viral de TEV no mostró cambios significativos antes y después del tratamiento térmico.

#### **Palabras clave**

Tratamiento térmico • variedades de ajo • virus • DAS-ELISA

- 
- 1 Programas de Fitopatología, Biología Molecular y Hortalizas del Campo Experimental Zacatecas - INIFAP, Carretera Zacatecas - Fresnillo, Calera de V. R., Zacatecas, México, C. P. 98500. velasquez.rodolfo@inifap.gob.mx
  - 2 Programa de Fitopatología del Campo Experimental La Laguna - INIFAP, Boulevard José Santos Valdez Pte. 1200, Matamoros, Coahuila, México, C. P. 27440.

## ABSTRACT

It was evaluated the virus presence in cloves of 24 varieties of garlic before and after being thermo-treated using the serological technique DAS-ELISA for TEV, SLV, GarCLV, OYDV, and LYSV. Garlic bulbs were exposed to  $33 \pm 1$  °C during a period of six weeks. After thermic treatment, 23 varieties had one virus at least; however, none of the five viruses was detected in the cloves of the variety Español, also, the variety ChJO 13 was only positive to TEV. TEV was the more persistent virus through the thermic treatment. In spite of virus or variety, the percentage of virus-positive cloves was 53.5 and 45.1% before and after thermic treatment respectively. Most of the cloves showed multiple infections in diverse combinations. Only TEV and SLV appeared as single infections or with only one virus; after thermic treatment only TEV kept this characteristic. Viral concentration for TEV did not show significant changes before and after thermic treatment.

### Keywords

thermic treatment • garlic varieties • virus • DAS-ELISA

## INTRODUCCIÓN

El estado mexicano de Zacatecas, localizado en el norte centro del país es el principal productor de ajo (*Allium sativum* L.) con alrededor de 2.000 hectáreas anuales que aportan cerca del 45% de la producción nacional (10).

El cultivo enfrenta el ataque de enfermedades de origen fungoso como la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk.) y se conoce la incidencia de enfermedades provocadas por virus. Velásquez-Valle *et al.* (2010), reportaron la presencia de los virus del jaspeado del tabaco (TEV: *Tobacco etch virus*), (LYSV: *Leek yellow spot virus*), latente del shallot (SLV: *Shallot latent virus*), latente común del ajo (GarCLV: *Garlic common latent virus*) y del enanismo amarillo de la cebolla (OYDV: *Onion yellow dwarf virus*) en plantas colectadas en parcelas comerciales de ajo en Zacatecas.

La mayoría de estos virus se han detectado en los bulbillos de ajo y ya que este se propaga asexualmente los virus persisten en ciclos sucesivos de cultivo (9).

Las enfermedades provocadas por virus en ajo, su sintomatología, epidemiología y, sobre todo, su impacto en el rendimiento, son poco conocidos en Zacatecas y consecuentemente, su manejo por parte de los productores es deficiente.

Las pérdidas provocadas por las infecciones virales son variantes y pueden depender, parcialmente, de la interacción agente viral-genotipo. En Argentina se señala que el *Garlic virus A* causó reducciones entre 14 y 32% en el peso de bulbo y entre 6 y 11% en el diámetro de las variedades Morado-INTA y Blanco-IFFIVE (1). En México se ha reportado que las enfermedades provocadas por virus pueden causar una baja de 33 a 50% en el rendimiento y hasta el 30% del peso de los bulbos especialmente cuando la frecuencia de virus como OYDV, LYSV y SLV, entre otros es elevada (3).

Una de las medidas de combate más eficientes es el empleo de "semilla" libre de virus; su obtención incluye la aplicación de quimio y termo terapia y cultivo de tejidos.

El empleo de alta temperatura para eliminar o reducir la "carga viral" ha sido definida como la producción de un ambiente celular progresivamente menos adecuado para el o los agentes virales (6) y es un paso previo al cultivo de meristemos que provean plantas libres de virus. Este último es un proceso que requiere de por lo menos cinco años (2). Una alternativa de manejo empleando tecnología al alcance de los productores de ajo, es la aplicación de alta temperatura directamente a los bulbos para eliminar o reducir la "carga viral", sin dañar su capacidad de germinación o posterior desarrollo. Sin embargo en una primera etapa de la investigación se deseaba confirmar la efectividad del tratamiento térmico sobre la incidencia de los agentes virales en la hipótesis de que sería posible eliminar todos los agentes virales de los bulbillos después de un período de tratamiento térmico.

### Objetivo

Evaluar el efecto de un termotratamiento sobre la presencia de virus en bulbos de 24 variedades de ajo.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluó la presencia de virus en bulbos de 24 variedades de ajo obtenidas del programa de mejoramiento genético del Campo Experimental Zacatecas (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias: INIFAP) y colectadas en los estados de Aguascalientes, Guanajuato y Zacatecas, México (tabla 1).

La presencia viral se determinó en forma previa y después de que se aplicó el tratamiento térmico.

Cuatro bulbos de cada variedad seleccionados al azar, de calibre 8, con un índice visual de dormición que fluctuaba entre 80 y 87% y procedentes de plantas asintomáticas se numeraron y sometieron a tratamiento térmico, el cual consistió en permanecer seis semanas consecutivas en un rango de temperatura de  $33 \pm 1^\circ\text{C}$  dentro de una estufa bacteriológica Mca. Felisa Mod. FE 131 Serie 111.

Los bulbos dentro de la estufa se cambiaron de posición semanalmente para evitar potenciales áreas con fluctuaciones de temperatura.

**Tabla 1.** Variedades de ajo sujetas a termotratamiento y su procedencia geográfica.

**Table 1.** Varieties of garlic under thermic treatment and their geographic origin.

Variedad	Origen	Tipo de ajo	Línea/Variedad	Origen	Tipo de ajo
1 JAM	Zacatecas	Jaspeado	2 JJO	Zacatecas	Jaspeado
3 ChP	Zacatecas	Jaspeado	4 ChBM	Zacatecas	Jaspeado
5 Perla	Aguascalientes	Blanco	6 EnJo	Zacatecas	Jaspeado
7 ENSP	Zacatecas	Jaspeado	8 EJO	Zacatecas	Jaspeado
9 COR	Zacatecas	Jaspeado	10 ENS P	Zacatecas	Jaspeado
11 COR	Zacatecas	Jaspeado	12 ENP	Zacatecas	Jaspeado
13 ChJO	Zacatecas	Jaspeado	14 JAS P	Zacatecas	Jaspeado
15 CHP	Zacatecas	Jaspeado	16 JASP	Zacatecas	Jaspeado
17 Español	Aguascalientes	Blanco	18 CC	Zacatecas	Jaspeado
19 Celaya	Guanajuato	Morado	20 Tacazcuaro	Guanajuato	Morado
21 Pebeco	Guanajuato	Morado	22 Tingüindin	Guanajuato	Morado
23 Huerteño	Guanajuato	Morado	24 Sanmarqueño	Aguascalientes	Blanco

De cada bulbo se tomó al azar un bulbillo antes y después del termotratamiento para determinar la presencia de cinco virus mediante la técnica de inmunoabsorción enzimática denominada sándwich de doble anticuerpo (DAS-ELISA).

Se utilizó los antisueros para las proteínas de cubierta de los virus del jaspeado del tabaco (TEV: *Tobacco etch virus*), latente del shalot (SLV: *Shalot latent virus*), latente común del ajo (GarCLV: *Garlic common latent virus*), del enanismo amarillo de la cebolla (OYDV: *Onion yellow dwarf virus*) y de franja amarilla del puerro (LYSV: *Leek yellow stripe virus*) siguiendo el protocolo del fabricante (AGDIA, Inc.) y que, brevemente, consistió en agregar a cada celda 100  $\mu$ L de la savia contenida en el tejido del bulbillo. En el proceso se agregó un volumen igual de conjugado IgG-fosfatasa alcalina.

Finalmente, se agregaron 100  $\mu$ L de sustrato PNP diluido en buffer de sustrato a cada celda de la placa, la cual se incubó en cámara húmeda y en oscuridad.

La lectura de absorbancia se realizó en un espectrofotómetro Plate-Reader Mca. DAS Mod. A 1 a una longitud de onda de 405 nm para todos los virus con excepción de SLV donde la longitud de onda fue de 650 nm.

Como criterio para determinar el límite de detección se utilizó el valor duplicado de la desviación estándar del testigo negativo.

Los valores superiores a este límite de detección se consideraron positivos (8).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **Incidencia viral previa al termotratamiento**

En las plantas de ajo la eliminación de infecciones virales es difícil debido a la acumulación viral en los bulbillos; el análisis viral previo por medio de DAS-ELISA reveló que las 24 variedades

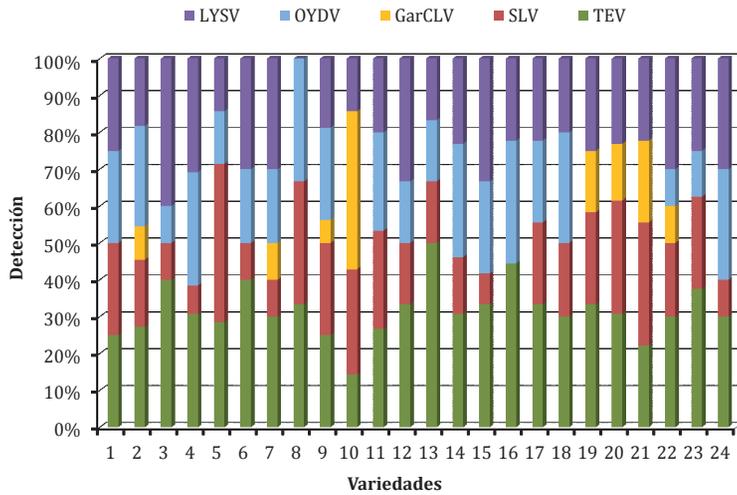
fueron positivas a por lo menos uno de los agentes virales, independientemente de su procedencia geográfica. Sin embargo, solo el TEV se detectó en las 24 variedades; SLV y LYSV fueron detectados en 95,8% de las variedades; OYDV y GarCLV se encontraron en 83,3 y 33,3% de las variedades respectivamente.

El rango de detección dentro de cada virus fue similar (25-100%) para TEV, SLV, OYDV y LYSV; solamente para GarCLV el rango de detección fue ligeramente menor; de 25 a 75%, es decir en ninguna variedad se alcanzó el 100% de incidencia con este patógeno (figura 1, pág. 161).

Los resultados obtenidos en este trabajo empatan con la presencia viral (con excepción del TEV) en el follaje de plantas de ajo asintomáticas mencionada por Velásquez *et al.* (2010). La presencia de estos agentes virales en los bulbillos de ajo de la República Checa había sido mencionada por Klukáčová *et al.* (2007), aunque con diferentes porcentajes de detección. En la India, Majumder *et al.* (2008), mencionan la presencia del OYDV y SLV en los bulbillos de la línea de ajo denominada PS-10.

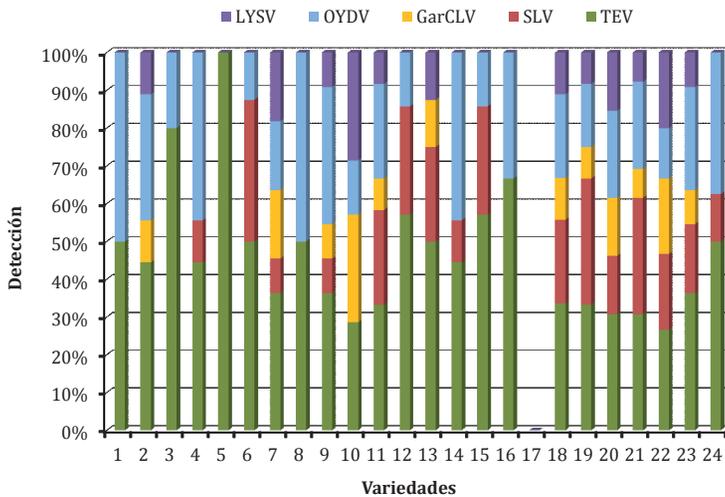
### **Incidencia viral posterior al tratamiento térmico**

En 23 de las 24 variedades termotrata- das se detectó al menos un patógeno viral; solo en las muestras de la variedad Español no se detectó ninguno de los cinco virus analizados. Destaca también la variedad Perla en la que solamente se detectó al TEV, aunque con incidencia de 100%. Para algunos de estos virus se manifestó una tendencia de diferente magnitud, a reducir la incidencia después del tratamiento térmico; para TEV (de 100 a 98,5%), SLV (95,8 a 66,7%) y LYSV (95,8 a 50%); lo opuesto ocurrió con GarCLV (33,3 a 50%) y OYDV (83,3 a 87,5%) (figura 2, pág. 161).



**Figura 1.** Incidencia de TEV, SLV, GarCLV, OYDV y LYSV en bulbillos de 24 variedades de ajo antes de ser sometidas a termotratamiento.

**Figure 1.** Incidence of TEV, SLV, GarCLV, OYDV y LYSV in cloves of 24 varieties of garlic before being thermo-treated.



**Figura 2.** Incidencia de TEV, SLV, GarCLV, OYDV y LYSV en bulbillos de 24 variedades de ajo después de ser sometidas a tratamiento térmico.

**Figure 2.** Incidence of TEV, SLV, GarCLV, OYDV y LYSV in cloves of 24 varieties of garlic after being thermo-treated.

Perez *et al.* (1996) indican una reducción de hasta 82,5% en la detección de potyvirus en tejido meristemático obtenido después de termotratamiento aunque no se menciona la presencia viral en el tejido del bulbillo remanente después del termotratamiento.

Es importante señalar la presencia constante del TEV antes y después del termo tratamiento en la mayoría de las variedades. Este virus ya había sido mencionado afectando otras hortalizas (incluyendo ajo y cebolla) en la región de Zacatecas (12, 13).

No obstante, el número de variedades con cinco agentes virales pasó de cuatro a nueve, antes y después del tratamiento térmico respectivamente. No hubo cambio en el número de variedades de ajo con tres agentes virales (20,8%) en ambas fases del estudio; un porcentaje similar (20,8%) de variedades resultó con solo dos agentes virales detectados.

Los resultados de DAS-ELISA en pre tratamiento no mostraron líneas/variedades con 0, 1 o 2 agentes virales; estas categorías aparecen solo después del tratamiento térmico y podrían evidenciar un avance en la eliminación de estos patógenos en los bulbos de ajo

Al analizar las características de la presencia viral en función del número de bulbillos positivos y bulbillos totales examinados se encontró que la incidencia promedio antes del tratamiento térmico fue de 53,5%, es decir 237 de 480 bulbillos analizados se encontraban infectados con al menos un virus. La incidencia promedio posteriormente al tratamiento térmico se redujo a 45,1% lo que corresponde a 206 de 475 bulbillos examinados (se redujo el número de dientes ya que cinco bulbillos en la línea CC 18 se perdieron) se encontraban infectados con al menos un virus.

En la mayoría de los bulbillos analizados, independientemente del tratamiento térmico, se detectó dos o más virus, sin embargo, en la fase de pre tratamiento solamente se detectó la presencia individual del TEV y SLV en cuatro y tres bulbillos respectivamente. Se identificó 12 interacciones infectivas diferentes involucrando dos o más virus; las infecciones múltiples más comunes en esta etapa resultaron TEV + SLV + OYDV + LYSV y TEV + OYDV + LYSV con una incidencia de 22,3 y 20% respectivamente. Después del tratamiento térmico solamente se registró la presencia individual de TEV en 19 bulbillos que representan el 21,1% de los analizados. En el resto de los bulbillos se detectó infecciones mixtas entre las que destacan TEV + OYDV, TEV + SLV + OYDV y TEV + SLV en el 30,0, 15,5 y 13,3% respectivamente. Después del tratamiento térmico se registró 11 interacciones infectivas diferentes involucrando dos o más virus (tabla 2, pág. 163).

Es de interés notar que algunas interacciones infecciosas presentes antes del tratamiento térmico ya no se presentan una vez que se llevó a cabo la exposición térmica; solamente la interacción TEV + GarCLV + OYDV + LYSV, que no se detectó en la fase de pre tratamiento fue identificada después del tratamiento térmico. Por otro lado, la frecuencia de algunas interacciones fue menor en la fase de pre tratamiento que después del tratamiento térmico como en el caso de la interacción TEV + OYDV cuya frecuencia de detección pasó de 3,5 a 30% antes y después del tratamiento térmico respectivamente. En el otro sentido, se registró ocho interacciones que desaparecieron o disminuyeron su frecuencia de detección una vez que se sujetaron al tratamiento térmico.

**Tabla 2.** Frecuencia de interacciones infectivas en bulbillos de ajo previa y posterior a tratamiento térmico.

**Table 2.** Frequency of infective interactions in garlic cloves before and after thermic treatment.

Interacción infectiva	Pre tratamiento térmico	Post tratamiento térmico
SLV	4,7 <sup>1</sup>	0,0
TEV	3,5	21,1
TEV+SLV+OYDV+LYSV	22,3	0,0
TEV + SLV + GarCLV + OYDV + LYSV	3,5	6,7
TEV + OYDV + LYSV	20,0	0,0
TEV + SLV + LYSV	5,9	0,0
TEV + LYSV	9,4	0,0
TEV + SLV	4,7	13,3
TEV + OYDV	3,5	30,0
TEV + SLV + OYDV	8,2	15,5
TEV + GarCLV + LYSV	1,2	4,4
SLV + GarCLV	2,3	0,0
TEV + SLV + GarCLV + LYSV	8,2	1,1
TEV + SLV + OYDV + LYSV	2,3	0,0
TEV + GarCLV + OYDV + LYSV	ND <sup>2</sup>	7,8

<sup>1</sup> Frecuencia (%); <sup>2</sup> No detectada. / <sup>1</sup> Frequency (%); <sup>2</sup> Not detected.

La reducción en la concentración viral pudiera constituir un indicativo de la eficiencia del tratamiento térmico, especialmente en aquellos casos donde el número de dientes positivos también se abatió.

En el caso de TEV, el virus más frecuente en ambas fases, el número de dientes positivos (incidencia) presentó pocos cambios por lo que la concentración viral fue similar, evidenciada por los valores de la desviación estándar, en 19 de 24 variedades. Sin embargo, en una línea (ChJO 13) la concentración se redujo y, notablemente, en la variedad Español el virus no fue detectado después del termotratamiento. En cinco variedades la concentración de TEV se incrementó después del tratamiento térmico.

Con respecto a la concentración de SLV, se observó una reducción cuantificable en seis variedades después del tratamiento térmico; en las restantes 18 variedades no fue posible evaluar el efecto del tratamiento

térmico sobre la concentración viral ya que al reducirse la incidencia, es decir el número de dientes infectados, no fue posible calcular la desviación estándar y por ende, no se pudo llevar a cabo la comparación pre y post tratamiento. Este mismo resultado se repitió con GarCLV, OYDV y LYSV.

Es oportuno mencionar que la concentración viral se incrementó después del tratamiento térmico en algunas variedades como en el caso de la variedad 8 (ENJO) y la variedad Tacazcuaro infectadas con TEV; la misma variedad Tacazcuaro infectada con GarCLV también incrementó su concentración viral después del termotratamiento. La concentración viral después del tratamiento térmico en la variedad 9, COR, infectada con OYDV también fue superior a la concentración previa al tratamiento; en el caso de LYSV esa misma tendencia se identificó en la variedad Tacazcuaro.

De acuerdo con Panattoni *et al.* (2013) se sabe que la termoterapia es potencialmente efectiva para degradar las partículas virales presentes en la célula aunque su comportamiento es pobre con respecto a la síntesis de nuevos viriones. Los resultados negativos a la presencia de algunos de los virus así como la reducción en la lectura de concentración viral registrados en este trabajo podrían ser explicados en función de esa capacidad de degradar los viriones de la termoterapia, sin embargo se requiere comprobar la síntesis de nuevas partículas virales, especialmente en variedades como Español que resultaron negativas a los virus probados después del tratamiento térmico.

Los resultados obtenidos no permiten confirmar la hipótesis de la total eliminación viral en los bulbillos mediante el tratamiento térmico evaluado. Es posible que la aplicación del termotrata- miento ayude a reducir la "carga viral" en los bulbos de ajo como una medida alternativa a la costosa y prolongada producción de plantas libres de virus por medio de cultivo de tejido meristemático,

sin embargo es necesario confirmar los umbrales térmicos y tiempos de exposición más apropiados para no interferir con la germinación de los bulbillos y posterior desarrollo de la planta.

## CONCLUSIONES

La aplicación de un tratamiento térmico ( $33 \pm 1^\circ\text{C}$ ) a bulbos de ajo permitió reducir parcialmente el porcentaje de dientes infectados, el número de interacciones infecciosas y la concentración viral en algunas variedades de ajo.

La respuesta de los agentes virales al tratamiento térmico evaluado no es uniforme sino, parece evidente que algunos virus como el del jaspeado del tabaco (TEV) no fueron afectados por el tratamiento térmico aplicado.

En función de los resultados obtenidos se recomienda continuar la evaluación de diferentes tipos de tratamiento térmico y sus efectos sobre los agentes virales así como su impacto en la fisiología de los bulbillos de ajo empleados como "semilla".

## BIBLIOGRAFÍA

1. Cafrune, E. E.; Perotto, M. C.; Conci, V. C. 2006. Effect of two *Allxi virus* isolates on garlic yield. *Plant Disease*. 90: 898-904.
2. Conci, V. C.; Canavelli, A.; Lunello, P.; Di Rienzo, J.; Nome, S. F.; Zumelzu, G.; Italia, R. 2003. Yield losses associated with virus-infected garlic plants during five successive years. *Plant Disease*. 87: 1411-1415.
3. García-Rodríguez, O. G.; Pérez-Moreno, L.; Navarro-león, M. J.; Salas-Araiza, M. D.; Martínez-Jaime, O. A.; León-Galván, M. F.; Núñez-Palenius, H. G. 2014. Virus fitopatógenos en insectos asociados al ajo. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 20: 147-156.
4. Klukáčová, J.; Navrátil, M.; Duchoslav, M. 2007. Natural infection of garlic (*Allium sativum* L.) by viruses in the Czech Republic. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 114:97-100.
5. Majumder, S.; Baranwal, V. K.; Joshi, S. 2008. Simultaneous detection of onion yellow dwarf virus and shallot latent virus in infected leaves and cloves of garlic by duplex RT-PCR. *Journal of Plant Pathology*. 90: 371-374.
6. Panattoni, A.; Luvisi, A.; Triolo, E. 2013. Review. Elimination of viruses in plants: twenty years of progress. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 11: 173-178.
7. Pérez, L.; Ramírez, R.; Salinas, J. G. 1996. Obtention of virus free (potyvirus) garlic plants. *Memorias. XXIII Congreso Sociedad Mexicana de Fitopatología*. Resumen 061.

8. Pérez-Moreno, L.; Santiago-Gómez, D.; Rico-Jaramillo, E.; Ramírez-Malagón, R.; Mendoza-Celedón, B. 2008. Efecto de virus fitopatógenos sobre características y calidad del ajo (*Allium sativum* L.) en el estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 26: 40-48.
9. Pérez-Moreno, L.; Santibañez-Jaramillo, L. I.; Mendoza-Celedón, B.; Ramírez-Malagón, R.; Nuñez-Palenius, H. G. 2014. Effect of natural virus infection on quality and yield of garlic elite lines. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*. 2(2S): 243-250.
10. Reveles-Hernández, M.; Velásquez-Valle, R.; Cid-Ríos, J. A. 2014. Barretero, variedad de ajo jaspeado para Zacatecas. Folleto Técnico Núm. 61. Campo Experimental Zacatecas - INIFAP. Calera de V. R., Zacatecas, México. 34 p.
11. Velásquez-Valle, R.; Chew-Madinaveitia, Y. I.; Amador-Ramírez, M. D.; Reveles-Hernández, M. 2010. Presencia de virus en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.) en Zacatecas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 28: 135-143.
12. Velásquez-Valle, R.; Reveles-Torres, L. R.; Mena, C. J. 2012a. Incidencia y sintomatología de cinco virus en parcelas comerciales de chile seco en Aguascalientes, San Luis Potosí y Zacatecas, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 3: 381-390.
13. Velásquez-Valle, R.; Reveles-Hernández, M.; Amador-Ramírez, M. D. 2012b. Distribución viral en plantas de cebolla (*Allium cepa* L.) asintomáticas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 3: 1425-1434.

## **First record of *Diploscapter coronata* (Rhabditida), a possible health significance nematode associated with tomato crops in Argentina**

### **Primer registro de *Diploscapter coronata* (Rhabditida), un posible nematodo de importancia sanitaria asociado a cultivos de tomate en Argentina**

Augusto Salas <sup>1</sup>, José Matías Rusconi <sup>1</sup>, Nora Camino <sup>1,2</sup>, Daiana Eliceche <sup>1</sup>,  
María Fernanda Achinelly <sup>1,3</sup>

Originales: Recepción: 21/03/2016 - Aceptación: 08/10/2016

Nota científica

#### **ABSTRACT**

*Diploscapter coronata* is a free-living soil bacterial-feeding nematode found in compost, sewage or agricultural soil and as a facultative parasite of insects and vertebrates, even humans. The clinical symptoms include epigastric tenderness, diarrhea, crampy abdominal pain, weakness and nausea. Also, they have been considered as potential carriers of bacteria pathogenic to the surface of preharvest fruits and vegetables in contact with soil. In this note, we reported the presence of *D. coronata* in the framework of diverse soil nematodes samplings in orchards of Abasto town, Buenos Aires province, Argentina. Soil samples taken from tomato growing (*Lycopersicon esculentum*) were processed in the laboratory by the centrifugation method, while collected roots were observed directly under stereomicroscope in order to isolate nematodes. Specimens were identified by morphological and morphometric characteristics. Results showed the presence of *D. coronata* in agricultural soil and in association with root galls, caused by the plant-parasitic nematode, *Nacobbus aberrans*. Females were the only isolated stage. The detection of this nematode in greenhouses where dogs, cats and poultry live together without any health control highlights the importance of applying proper hygiene measures during agricultural practices to avoid contamination of fruits and vegetables and prevent infections in domestic animals and humans. This report constitutes the first record of the *Diploscapter* genus with the species *D. coronata* in Argentina.

#### **Keywords**

*Diploscapter coronata* • *Lycopersicon esculentum* • soil nematodes • facultative parasite • root galls • *Nacobbus aberrans*

- 
- 1 Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores, (CEPAVE). CONICET, Universidad Nacional de la Plata, Argentina. augustokan@gmail.com
  - 2 CEPAVE Miembro de la carrera de Investigación de la Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) de Buenos Aires. (CCT, La Plata, CONICET).
  - 3 CEPAVE Miembro de la carrera de Investigación de CONICET.

## RESUMEN

*Diploscapter coronata* es un nematodo de vida libre que habita el suelo y se alimenta de bacterias. Se ha encontrado en compost, alcantarillas o suelos agrícolas y como parásito facultativo de insectos y vertebrados, incluyendo al hombre. Los síntomas clínicos incluyen: sensibilidad epigástrica, diarrea, dolor abdominal y náuseas. Incluso, han sido considerados potenciales portadores de bacterias patogénicas asociadas con la superficie de frutas y vegetales pre-cosechadas en contacto con el suelo. En esta nota, se reporta la presencia de *D. coronata* en el marco de diversos muestreos de nematodos de suelo, en huertas de la localidad de Abasto, provincia de Buenos Aires, Argentina. Las muestras de suelo tomadas de cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*) se procesaron en el laboratorio mediante el método de centrifugación, mientras que las raíces recolectadas fueron observadas directamente bajo microscopio estereoscópico con el fin de aislar los nematodos. Los especímenes fueron identificados por características morfológicas y morfométricas. Los resultados mostraron la presencia de *D. coronata* en suelos agrícolas y en agallas radicales causadas por el nematodo parásito de plantas *Nacobbus aberrans*. Las hembras fueron el único estadio aislado. La detección de este nematodo en invernaderos donde gatos, perros y aves de corral viven juntos sin ningún control sanitario, realza la importancia de adoptar medidas apropiadas de higiene durante las prácticas agrícolas para evitar la contaminación de frutas y verduras y prevenir infecciones en animales domésticos y el hombre. Este informe constituye el primer registro del género *Diploscapter* con la especie *D. coronata* en Argentina.

### Palabras claves

*Diploscapter coronata* • *Lycopersicon esculentum* • nematodos de suelo • parásito facultativo • agallas radicales • *Nacobbus aberrans*

## INTRODUCTION

Rhabditid nematodes are very abundant in all types of soil and sediments of fresh-water bodies and play important ecological roles mainly as primary consumers, but also as animal parasites (1).

The genus *Diploscapter* Cobb, 1913, includes free-living bacterivorous nematodes characterized by an unusual head with hook-like appendages and membrane-like lateral lips (4). Among them *Diploscapter coronata* (Cobb, 1893) Cobb, 1913 is a cosmopolitan rhabditid nematode obtained from decaying banana roots in Fiji Island (7), and later from agricultural soils, compost, sewage and as a facultative parasite of vertebrates (cats, dogs, snakes, tigers), even humans,

with clinical signs of the gastrointestinal or genitourinary systems (5, 6, 10, 12, 13). In addition, their potential as vectors of food-borne pathogenic bacteria, to the surface of preharvest fruits and vegetables in contact with soil has been determined (9).

In South-America, the presence of this nematode has been reported for Venezuela, Brazil, Peru and Paraguay (4).

In this work, we extend this distribution, with the report of *Diploscapter coronata* in the framework of a nematode soil study of different crop areas including tomato samplings in Argentina, constituting the first report of the genus and species for this country.

## MATERIALS AND METHODS

Specimens were isolated during 2015, in a survey of *Phytophagous nematodes* associated with tomato crops, from four orchards located in the Abasto town (34°56'35" S 58°5'30" W), Buenos Aires province, Argentina. Twenty sub-samples of 20 cm deep were taken to form a composed sample from each site. Roots of tomato plants with signs of damage by phytonematodes were also collected.

In the laboratory, each composed sample was homogenized and sieved. Nematodes were isolated from soil by sugar centrifugation method (100-cm<sup>3</sup> soil by each site) for 5 minutes at 2700 rpm, and from roots by examination and dissection under stereoscopic microscope (10). Characterization was carried out by a morphometric and morphological analysis, using a light microscope, following specific bibliography (4). Measurements were given in micrometers. Photographs were taken using an Olympus DP-71 microscope camera.

## RESULTS AND DISCUSSION

Adults of the rhabditid nematode *Diploscapter coronata* were observed in two of the four sampled orchards. A total of nine females were obtained: six from the agricultural soil for tomato growing and three from roots. Nematodes were characterized by annulated cuticle, two pairs of lips in the mouth region; lips transformed into a pair of medial, outwardly acting, distally bifurcate fosses and a pair of lateral lamellae; rhabditoid type of oral cavity and absence of glottoid apparatus, vulva median with a crosswise slit (figure 1 A-C, page 170). Measures are presented in table 1 (page 171).

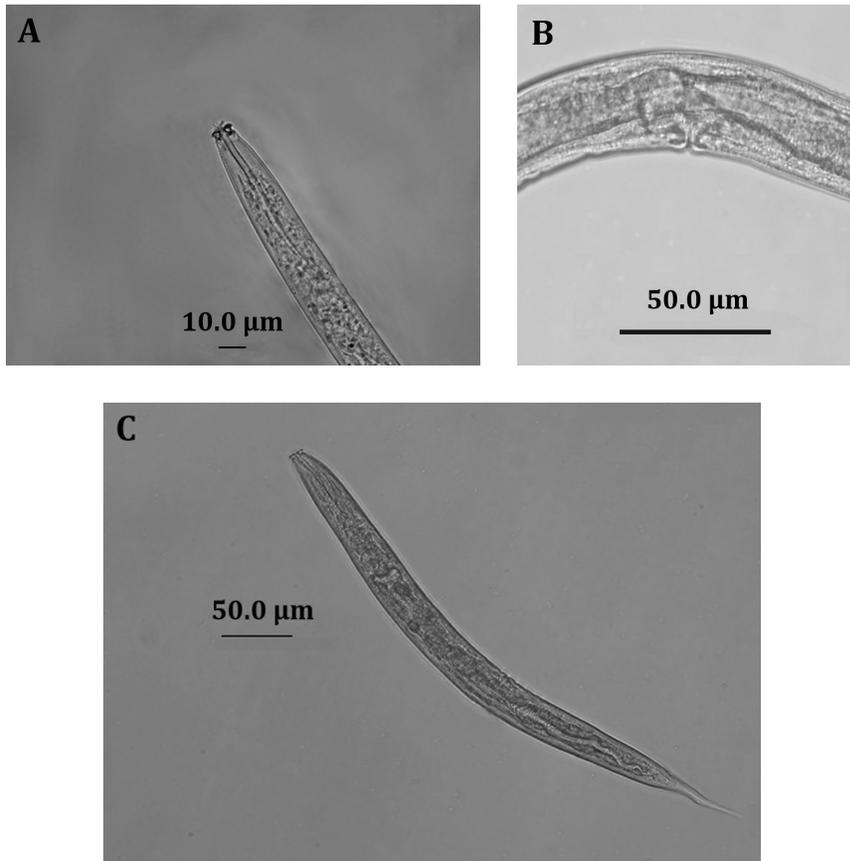
*Diploscapter coronata* has been collected previously from soil and decaying plant material in association with forest and horticultural crops, and as a facultative parasite of animals, even humans (1, 12). However, morphometric data of these nematode populations are scarce in the world (table 1, page 171).

In this work, females were isolated from agricultural soil and in association with root galls, caused by the plant-parasitic nematode, *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944. Specimens were observed inside and over the surface of galls. *Phytophagous nematodes* cause wounds in the roots favoring the penetration of other pathogens, and are mainly responsible for major damage to plants (2, 11).

Bacterial-feeding of *Diploscapter coronata* could be one of the reasons of the presence of this nematode in association with root galls of tomato crops, which may be attracted by bacteria of the rhizosphere being able to penetrate plant tissues through wounds produced by plant parasitic nematodes.

Males of *D. coronata* were not observed in our study. The causes are unknown, although may be due to the low or nule occurrence of these nematodes in soil. According to this, the only description of males for this species was presented by Ali Asghar Shah and Shavish Vaid, 2015.

Cats, dogs, and human infections by *D. coronata* were also reported (5, 12). In this case, the life cycle is characterized by an adult worm, generally inhabiting the stomach wall. Mature female produces fertilized ova that are excreted with the host's feces; eggs are spread by rain into ponds, canals and rivers, where they hatch into first stage larvae; the infective larvae are then ingested accidentally by a host. Therefore, potentially serious consequences could be produced when people are exposed to contaminated environments with infected feces.



**Figure 1.** Light micrographs of *Diploscapter coronata* female: A. Anterior end. Note the two fossae and the pair of lamellae in the head region. B. Vulval region. C. Entire worm.

**Figura 1.** Fotos al microscopio óptico de hembras de *Diploscapter coronata*. A. Extremo anterior. Nótese los dos fosores y el par de lamellas en la región cefálica. B. Región vulvar. C. Nematodo vista general.

The clinical symptoms include epigastric tenderness, diarrhea, crampy abdominal pain, weakness and nausea (5).

Studies showed that *Diploscapter coronata* was found in great abundance and in all stages of development in human stomachs containing little or no hydrochloric acid (6, 12).

Worms may establish themselves and multiply in diseased female urino-genital systems as well as in hypohydrochloric stomachs, and live as juvenile in the skin, particularly in cases of scabies. Athari and Mahmoudi (2008), described the report of a man who developed a mild gastrointestinal discomfort including diarrhea associated with feces containing many larvae of *Diploscapter coronata*.

**Table 1.** Morphometry of *Diploscapter coronata* females, isolated in present work and those provided by the bibliography. All measurements: mean  $\pm$  s.d (range) are in  $\mu\text{m}$  except V%, (NA: not available).

**Tabla 1.** Morfometría de *Diploscapter coronata* (hembras) determinada en el presente trabajo y aquellas proporcionadas por la literatura. Todas las medidas: media  $\pm$  desvío (rango) se expresan en  $\mu\text{m}$  excepto V% (N/A: no disponible).

Characters	Populations of <i>D. coronata</i> mean $\pm$ s.d (range)					Present work
	Abolafia, J.; Peña-Santiago, 2007	Eyualem <i>et al.</i> , 1998 (Ethiopian population)	Eyualem <i>et al.</i> , 1998 (Iranian population)			
Total length	437.6 $\pm$ 39.5 (358-504)	427.5 $\pm$ 25 (395-480)	350.9 $\pm$ 23.4 (317-403)	3 $\pm$ 0.2 (2-3)	2.3 $\pm$ 0.1 (2-2.5)	357.04 $\pm$ 75.99 (270-464.3)
Stoma width	N/A					2.32 $\pm$ 0.00 (2.32)
Stoma length	18.3 $\pm$ 1.4 (16-22)	21.8 $\pm$ 0.9 (20-23)	20.9 $\pm$ 1.2 (19-23)			19.47 $\pm$ 1.24 (18.6-20.8)
Esophagous length	95.3 $\pm$ 5.0 (90-109)	108.5 $\pm$ 5.2 (95-114)	67.5 $\pm$ 2.7 (64-73)			83.96 $\pm$ 2.99 (81.2-88.1)
Beginning of basal bulb from anterior end	N/A	N/A	N/A			67.72 $\pm$ 2.57 (64.9-69.6)
Nerve ring from anterior end	70.5 $\pm$ 4.0 (66-85)	70 $\pm$ 3 (65-77)	66.5 $\pm$ 3.1 (60-71)			54.28 $\pm$ 5.59 (48.7-60.3)
Excretory pore from anterior end	78.0 $\pm$ 9.0 (69-100)	79 $\pm$ 4.9 (70-89)	75.1 $\pm$ 3.9 (67-82)			73.74 $\pm$ 8.72 (60.32-83.5)
Maximum body width	26.3 $\pm$ 3.1 (20-32)	24.3 $\pm$ 1.8 (21-28)	21.7 $\pm$ 1.5 (20-25)			24.11 $\pm$ 3.86 (18.6-27.8)
Vulva body width	N/A	N/A	N/A			23.88 $\pm$ 4.73 (16.2-27.8)
Posterior end width	12.0 $\pm$ 1.7 (9-17)	11.3 $\pm$ 1 (10-14)	9.6 $\pm$ 0.8 (9-12)			19.92 $\pm$ 4.22 (16.2-25.5)
Tail length	68.8 $\pm$ 5.9 (55-80)	55.5 $\pm$ 6.3 (45-71)	51 $\pm$ 9 (36-67)			54.26 $\pm$ 12.23 (41.7-69.6)
Vagina length	7.3 $\pm$ 0.8 (7-9)	N/A	N/A			6.03 $\pm$ 1.27 (4.6-6.9)
V %	N/A	53.2 $\pm$ 1.5 (50-55.7)	53.7 $\pm$ 2.1 (50.1-58.4)			53 $\pm$ 4.00 (48-58%)

Nematodes were first diagnosed as the rhabditiform larvae of *Strongyloides stercoralis*, a soil-transmitted helminth, causal agent of strongyloidiasis, commonly found in tropical and subtropical areas.

Authors considered that while there are few reports of these worms as a real parasite, the presence of *Diploscapter* larvae in feces, should be considered in the differential diagnosis of Strongyloidiasis in endemic areas, because of the similarity between larvae of *D. coronata*, and *Strongyloides stercoralis* under microscopic examination (5).

The health significance of *D. coronata* is also based on their potential as vectors of food-borne pathogenic bacteria to the surface of fruits and vegetables in contact with soil (9).

In Argentina and other regions of South-America, is common to find in

agricultural production models, subsistence farming, in which much of crop production is used to maintain the farmer, and the farmer's family, leaving the rest for sale or trade. In some of them, dogs, cats and poultry live together in contact with crops, without any health control.

For these reasons, the isolation of *D. coronata* in this study in greenhouses under this type of agricultural management highlights the divulgation of hygiene and prevention measures in activities involving soil management, to avoid contamination of fruits and vegetables and infections in domestic animals and humans.

The detection of this nematode in the present work, constitutes the first report of the *Diploscapter* genus with the species *D. coronata* in Argentina.

## REFERENCES

1. Abolafia, J.; Peña-Santiago, R. 2007. Nematodes of the Order Rhabditida from Andalucía Oriental, Spain. The Genera *Protorhabditis* (Osche, 1952) Dougherty, 1953 and *Diploscapter* Cobb, 1913, with Description of *P. spiculocrestata* sp. n. and a Species *Protorhabditis* Key. *Journal of Nematology*. 39: 263-274.
2. Agrios, G. N. 2005. *Plant pathology*. New York. Ed. Elsevier Academic. 922 p.
3. Ali Asghar, S.; Shavish, V. 2015. Description of *Sclerorhabditis miniata* n. sp. and First Description of Male of *Diploscapter coronatus* Cobb, 1913 (Nematoda: Rhabditidae). *Journal of Nematology*. 47(2): 153-158.
4. Andrassy, I. 1983. A taxonomic review of the suborder Rhabditina (Nematoda: Secernentea). Paris. ORSTOM. 241 p.
5. Athari, A.; Mahmoudi, M. R. 2008. *Diploscapter coronata* Infection in Iran: Report of the first case and review of Literature. *Iranian Journal of Parasitology*. 3: 42-47.
6. Chandler, A. C. 1938. *D. coronata* as a facultative parasite of man, with a general review of vertebrate parasitism by rhabditoid worms. In the *Journal of Parasitology*. 30: 44-55.
7. Cobb, N. A. 1913. New nematode genera found inhabiting fresh water and non-brackish soils. *Journal of Washington Academy of Sciences*. 3: 432-433.
8. Eyualet, A.; Karegar, A.; Nabil, H.; De Ley, P. 1998. A redescription and ultrastructural study of *Diploscapter coronatus* (Cobb, 1893) Cobb, 1913 from Ethiopia and Iran. *Russian Journal of Nematology*. 6(1): 17-22.
9. Gibbs, D. S.; Anderson, G. L.; Beuchat, L. R.; Carta, L. K.; Williams, P. L. 2005. Potential role of *Diploscapter* sp. strain LKC25, a bacterivorous nematode from soil, as a vector of food-borne pathogenic bacteria to preharvest fruits and vegetables. *Journal of Applied Environmental Microbiology*. 71(5): 2433-2437.

10. Manzanilla-López, R. H.; Marbán-Mendoza, N. 2012. Practical Plant Nematology. México. Ed. Colegio de Post-graduados. 876 p.
11. Martinotti, M.D.; Castellanos, S. J.; González, R.; Camargo, A.; Fanzone, M. 2016. Efecto nematocida de extractos de ajo, orujo de uva y alperujo de aceituna; sobre *Meloidogyne incognita*, en vid, cv Chardonnay. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 48(1): 211-224.11.
12. Morimoto, N.; Korenaga, M.; Yagyu, K. 2006. Morphological observations and the effects of artificial digestive fluids on the survival of *Diploscapter coronata* from a Japanese patient. Journal of Helminthology. 80: 341-348.
13. Thorne, G. 1961. *Principles of Nematology*. New York. Ed. McGraw Hill Book Co. 553 p.

#### **ACKNOWLEDGEMENTS**

We would like to thank Dr. Eliseo Chaves for his knowledge, cooperation and predisposition during this research.

## **Comportamiento espacial de Zebra chip y *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) en *Solanum tuberosum* L. en valles altos de México**

### **Zebra chip spatial behavior and *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) in *Solanum tuberosum* L. in valleys high of Mexico.**

Alejandra Contreras-Rendón <sup>1</sup>, Ana Tarin Gutiérrez-Ibáñez <sup>2</sup>, Jesús Ricardo Sánchez-Pale <sup>2</sup>, Hilda Victoria Silva-Rojas <sup>3</sup>, Antonio Laguna-Cerda <sup>2</sup>

Originales: Recepción: 07/09/2015 - Aceptación: 07/04/2016

#### **RESUMEN**

En México la producción de papa es afectada por la enfermedad de Zebra chip causada por la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* que es transmitida por el psílido *Bactericera cockerelli*. El objetivo de esta investigación fue determinar el comportamiento espacial de Zebra chip y *Bactericera cockerelli* mediante técnicas geoestadísticas y la detección de la bacteria aplicando técnicas moleculares. En el año 2013 se seleccionó dos parcelas comerciales de papa de la variedad Fianna; un total de 121 puntos fueron muestreados cada 10 m con el método de cuadrícula por parcela, georreferenciando cada planta. La incidencia de la enfermedad se determinó en campo sobre la base de los síntomas observados; la detección molecular de la bacteria se realizó con los iniciadores Lp Frag 1-25F/427R. La incidencia de la enfermedad en la parcela 1 fue de 30% y de 25% en la parcela 2; la bacteria se detectó en el 27% de las plantas sintomáticas y en el 14% de las asintomáticas. La distribución espacial de la enfermedad, el patógeno y el vector se presentó en forma agregada, ajustándose a los modelos gaussiano y esférico; en la parcela 2, los centros de agregación del estadio adulto y la bacteria presentaron la misma ubicación.

#### **Palabras clave**

*Candidatus Liberibacter solanacearum* • *Bactericera cockerelli* • agregación • krigado

- 
- 1 Postgrado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México, Campus El Cerrillo, Toluca, Estado de México, México. C. P. 50200.
  - 2 Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México. atarini@uaemex.mx
  - 3 PREGEP-Producción de Semillas. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México. C. P. 56230.

## ABSTRACT

In Mexico potato production is affected by the disease Zebra chip; which it caused by the bacterium *Candidatus Liberibacter solanacearum* and is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli*. The objective of this research was to determine the spatial behavior of Zebra chip and *Bactericera cockerelli* with geostatistical techniques and bacterium detection using molecular techniques. In 2013 two commercial plots were selected cultivated with the variety Fianna; a total of 121 points were sampled every 10 m using the method of grid, in which each plant was georeferenced. The incidence of the disease was determined by the symptoms observed in the field; the molecular detection of bacterium was performed using Lp 1-25F Frag/427R primers. The disease incidence in plot 1 was 30% and 25% in plot 2; the bacterium was detected in 27% of plants where symptoms were presented and in 14% of asymptomatic ones. The spatial distribution of the disease, the pathogen and the vector was presented in an aggregated form, adjusting the gaussian and spherical model. In parcel 2, the aggregation centers of the adult stage and the bacterium showed the same location.

### Keywords

*Candidatus Liberibacter solanacearum* • *Bactericera cockerelli* • aggregation • kriging

## INTRODUCCIÓN

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en México representa una actividad importante dentro de la horticultura nacional. Los estados con mayor volumen de producción son Sonora, Sinaloa, Veracruz, Puebla, Nuevo León y el Estado de México (23).

La producción de papa en campos comerciales de México, Centroamérica, Estados Unidos y Nueva Zelanda, se ha visto severamente afectada debido a la presencia de la enfermedad de Zebra chip (Zc), que afecta el rendimiento y la calidad del tubérculo (13, 14, 16). Misma situación sucede con la enfermedad punta morada de papa asociada a fitoplasmas (9). Ambas enfermedades se equiparan al daño económico causado por Tizón tardío en el cultivo de papa (Andrade *et al.*, 2016).

Zc se ha asociado a la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* (*Ca. Liberibacter solanacearum*) (10, 13), transmitida por

el psílido *Bactericera cockerelli* (Sulc) (4, 10, 17). Este psílido es una plaga primaria de la papa, chile (*Capsicum* spp.) y tomate (*Solanum lycopersicum*) (16), determinando que su distribución es de forma agregada (5, 19) pero se desconoce actualmente el comportamiento espacial de *Ca. Liberibacter solanacearum*.

En este sentido, y considerando el comportamiento espacial, cobra particular importancia desarrollar estrategias de manejo eficientes para el control de la enfermedad y su vector.

### Objetivo

Determinar el comportamiento espacial de Zc y *B. cockerelli* aplicando técnicas geoestadísticas, así como la detección *Ca. Liberibacter solanacearum* mediante el empleo de técnicas moleculares en valles altos de México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se muestrearon dos parcelas comerciales de 1 hectárea cada una cultivadas con la variedad de papa Fianna, ubicadas en el municipio de San José del Rincón, Estado de México.

El muestreo se llevó a cabo durante el ciclo primavera verano 2013, a los 100 días posteriores a la siembra, cuando la papa se encontraba en la etapa fenológica de tuberización.

Se realizó una cuadrícula de 100 m por cada lado, tomando un punto de muestreo cada 10 m, totalizando 121 puntos; cada punto correspondió a una planta que fue georreferenciada mediante un sistema de posicionamiento global (GPS) (Modelo MAP 78s, GARMIN®, Olathe, KS).

En los estratos medio y bajo de la planta se contabilizó la presencia del psílido *B. cockerelli* en sus estadios de huevo, ninfa y adulto.

Los adultos se capturaron con una red entomológica. Se colectó foliolos de la planta para la detección de *Ca. Liberibacter solanacearum* y fitoplasmas en el laboratorio.

La severidad de la enfermedad se evaluó mediante una escala diagramática conformada por 6 niveles, sobre la base de los síntomas observados, a saber: 1 (planta sana, sin síntomas visibles), 2 (planta con enchinamiento o enrulamiento en las hojas), 3 (planta con síntoma de enchinamiento y amarillamiento en las hojas superiores), 4 (planta con síntomas de enchinamiento, amarillamiento y tallo aplanado), 5 (planta con síntomas de enchinamiento, amarillamiento, tallo aplanado y tubérculo aéreo), 6 (planta con síntomas de coloración púrpura en las hojas apicales).

La incidencia de la enfermedad se determinó con base en los síntomas observados en campo.

La incidencia del patógeno se realizó considerando los resultados positivos a *Ca. Liberibacter solanacearum* en el laboratorio. La concentración de la bacteria de cada una de las muestras se determinó por espectrofotometría (NanoDrop 2000 Thermo Scientific®, Waltham, MA) y se estableció una escala de cuatro niveles: 0 (ausencia de bacteria), 1 (50 a 150 ng  $\mu$ l), 2 (150 a 250 ng  $\mu$ l) y 3 (mayor a 250 ng  $\mu$ l).

La extracción de ADN se realizó en las nervaduras principales de hojas sintomáticas y asintomáticas, por el método de CTAB al 2% (7).

La concentración y calidad de DNA se midió con el espectrofotómetro. Para la detección por PCR de *Ca. Liberibacter solanacearum* y fitoplasmas, las muestras fueron diluidas a 20 ng  $\mu$ l.

La mezcla para PCR consistió en: 100 ng de DNA, 0,8 mM of dNTPs, 2 unidades de Platinum *Taq* DNA Polimerasa (Invitrogen, Carlsbad, CA), 1x Platinum *Taq* DNA polimerasa buffer y 20 pmol en un volumen final de 20  $\mu$ l. Todas las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un termociclador C100 Touch (BIO-RAD, USA), los productos obtenidos se verificaron en un gel de agarosa al 1,5% teñido con GelRed™ (Biotium, Alameda, CA) y las bandas se visualizaron en un transluminador (Infinity-3026 WL/LC/26MX Vilber Lourmat®, Eberhardzell, Germany).

Para la detección de *Ca. Liberibacter solanacearum* se utilizaron los iniciadores Lp Frag 1-(25F) y Lp Frag 1-(427R); las condiciones de amplificación consistieron en: 1 ciclo a 98°C por 30 s, seguido de 35 ciclos a 98°C por 10 s, a 60°C por 30 s, a 72°C por 1,5 min y un ciclo adicional de extensión a 72°C por 10 min (10).

La PCR para fitoplasmas se realizó con los iniciadores P1/P7 (6, 24), seguido de un PCR anidado con los iniciadores R16F2n/R16R2 (8).

Las condiciones de amplificación se realizaron como lo describen Gutiérrez-Ibáñez *et al.* (2012).

El análisis geoestadístico se realizó con la estimación del semivariograma de los datos obtenidos en los puntos de muestreo para los estadios huevo, ninfa y adulto de *B. cockerelli*, así como de los valores de severidad de la enfermedad y de presencia de *Ca. Liberibacter solanacearum*. El valor experimental del semivariograma se calculó siguiendo el método de Isaaks y Srivastava (1989):

$$\gamma^*(h) = \frac{1}{2N(h)} \sum_{i=1}^{N(h)} \left[ \left[ z(x_i) + h \right] - z(x_i) \right]^2$$

donde:

$\gamma^*(h)$  = valor experimental del semivariograma para el intervalo de distancia  $h$ .

$N(h)$  = número de pares de puntos muestrales separados por el intervalo de distancia  $h$ .

$z(x_i)$  = valor de la variable de interés en el punto muestral.

$z(x_i+h)$  = valor de la variable de interés en el punto muestral  $x_i+h$ .

A este semivariograma se le denomina experimental y se ajustó a un semivariograma teórico preestablecido. El semivariograma experimental se obtuvo a través del programa VarioWin 2.2 (Software for Spatial Data Analysis in 2D. Spring, NY).

Para determinar la relación entre los datos obtenidos en los muestreos se calculó el nivel de dependencia espacial que se obtuvo al dividir el efecto pepita y la meseta, expresando el resultado en porcentaje, a saber: menor a 25% es alto; entre 26 y 75% moderado y mayor a 76% bajo (15).

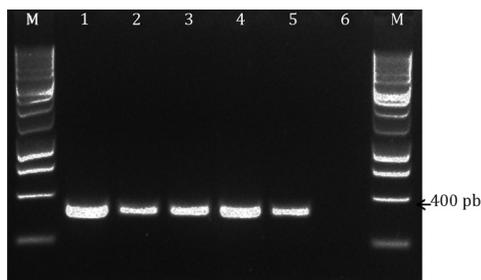
Para la elaboración de los mapas de densidad se utilizó el krigeado que permite estimar los valores inesgados a puntos que no fueron muestreados, para visualizar el comportamiento espacial de *B. cockerelli* en sus tres estadios, la severidad de la enfermedad y la presencia de *Ca. Liberibacter solanacearum* en las parcelas analizadas.

Las estimaciones de las densidades por parcela se realizaron con el programa Surfer 8.0. (Surface Mapping System, Golden Software Inc. 809, 14<sup>th</sup> Street Golden, CO).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La incidencia de la enfermedad en campo para la parcela 1 fue de 30%, mientras que en la parcela 2 fue de 25%, la severidad media de la enfermedad fue similar en ambas parcelas, sin embargo la mayor población del insecto en sus tres estadios se presentó en la parcela 2.

De las 121 muestras analizadas se detectó *Ca. Liberibacter solanacearum* en 36 plantas sintomáticas y 18 plantas asintomáticas en la parcela 1, y en la parcela 2 se detectó la bacteria en 30 plantas sintomáticas y 15 asintomáticas. Estos resultados concuerdan con Pitman *et al.* (2012), quienes reportaron el 13% de plantas asintomáticas con presencia de *Ca. Liberibacter solanacearum* y que el tubérculo-semilla de plantas aparentemente sanas pueden portar la bacteria. En las muestras analizadas no se detectó la presencia de fitoplasmas en la hoja, contrario a lo reportado por Rubio-Covarrubias *et al.* (2011), quienes reportan 29% de plantas de papa positivas a fitoplasmas asociado con el manchado del tubérculo en el Estado de México, (figura 1, pág. 179).



**Figura 1.** Electroferesis en gel de agarosa de los productos de PCR amplificados con los iniciadores LpFrag1-25F/427R. Marcador (M) 1kb DNA ladder (PROMEGA Madison, Wi, USA). Línea 1 a 3 plantas sintomáticas, línea 4 y 5 plantas asintomáticas, línea 6 agua, control negativo.

**Figure 1.** Agarose gel electrophoresis of PCR products obtained with primer pair pFrag1-25F/427R primer. Marker (M) 1 kb DNA ladder (Promega Madison, WI, USA). Lanes 1-3 symptomatic plants, lanes 4 and 5 asymptomatic plants, lane 6 water, negative control.

El análisis geoestadístico indicó que las poblaciones del psílido, la severidad de la enfermedad y la bacteria presentaron una distribución espacial de tipo agregada en las dos parcelas evaluadas, así como un alto nivel de dependencia espacial y un efecto pepita igual a cero, lo que indica que el error de muestreo fue mínimo y que la escala de muestreo utilizada fue la adecuada (21).

Los rangos del semivariograma en la parcela 1 fueron de 9,35 m para huevo y severidad de la enfermedad, para ninfa y adulto de 9,73 m y 5,33 m para *Ca. Liberibacter solanacearum*.

En la parcela 2 el rango para huevo fue 7,20 m, para ninfa 19,44 m, adulto 8,64 m, severidad de la enfermedad 3,90 m y *Ca. Liberibacter solanacearum* 4,89 m.

En la parcela 1 se determinó un ajuste al modelo gaussiano en los tres estadios del vector y *Ca. Liberibacter solanacearum*, lo cual es indicativo de que el comportamiento espacial se expresó en forma continua dentro de la parcela y avanza a plantas vecinas, concordando con lo reportado por Ramirez- Dávila y Figueroa- Figueroa (2013).

Por otro lado, el modelo esférico explicó el comportamiento espacial de la severidad de la enfermedad, expresándose en puntos específicos dentro de la parcela.

En la parcela 2, el modelo esférico describió la distribución espacial del adulto y la bacteria, indicativo que se expresan en centros de agregación, pero en ciertos puntos específicos dentro de la parcela.

El modelo Gaussiano describió el comportamiento de los estadios huevo, ninfa de *B. cockerelli*, así como la severidad de la enfermedad, que indica que presentaron una agregación de forma continua dentro de la parcela (tabla 1, pág. 180).

Los mapas de krigeado indicaron que los centros de agregación del adulto presentaron puntos similares de agregación a los observados en *Ca. Liberibacter solanacearum* en las parcelas 1 y 2.

Se observó que las plantas asintomáticas se agregan en el mismo punto donde se ubicaron los centros de agregación del adulto; lo anterior concuerda con lo indicado por Bové (2006), quien menciona que el psílido es el principal vector de este patógeno.

Paralelamente también se observó una similitud en la ubicación de los puntos de agregación del estadio adulto del insecto con los centros de agregación de plantas con la bacteria, sin expresar síntomas, mientras que la presencia de la bacteria en ubicaciones con ausencia del adulto mostró infecciones previas al muestreo.

**Tabla 1.** Parámetros (efecto pepita, meseta y rango) de los modelos ajustados a los semivariogramas obtenidos para huevos, ninfas y adultos de *Bactericera cockerelli* (Sulc), severidad de la enfermedad y presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en papa.

**Table 1.** Parameters (nugget, sill and range) of the models fitted to the semivariograms obtained in eggs, nymphs and adults of *Bactericera cockerelli* (Sulc), severity of disease and the presence of *Candidatus Liberibacter solanacearum* in potato.

Variable	$\mu$	Modelo	Efecto Pepita	Meseta	Rango (m)	Pepita/Meseta (%)	Nivel de dependencia
Parcela 1							
Huevo	1,04	Gaussiano	0	0,08	9,35	0	Alta
Ninfa	1,15	Gaussiano	0	0,11	9,73	0	Alta
Adulto	0,75	Gaussiano	0	0,07	9,73	0	Alta
Severidad	1,54	Esférico	0	0,02	9,35	0	Alta
Ca. L. so		Gaussiano	0	0,58	5,33	0	Alta
Parcela 2							
Huevo	3,70	Gaussiano	0	0,20	7,20	0	Alta
Ninfa	4,20	Gaussiano	0	25,20	19,44	0	Alta
Adulto	0,64	Esférico	0	0,05	8,64	0	Alta
Severidad	1,93	Gaussiano	0	0,03	3,90	0	Alta
Ca L so		Esférico	0	0,36	4,89	0	Alta

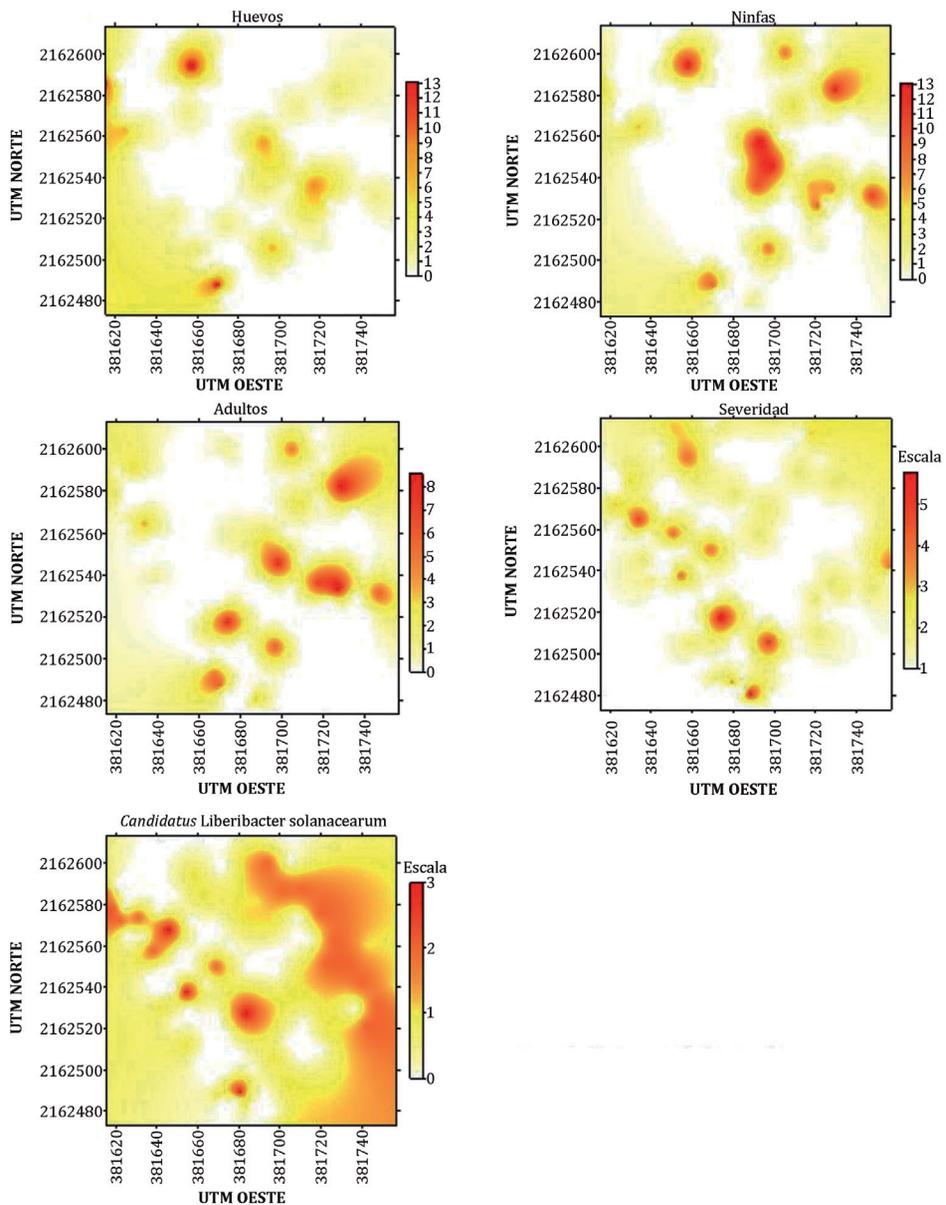
Las plantas asintomáticas pueden ser indicativas del período de incubación de la enfermedad que concuerda con lo expresado por Levy *et al.* (2011), quienes señalan que detectaron *Ca. Liberibacter solanacearum* en plantas de papa dos a tres semanas después de que las plantas fueron expuestas al psílido infectados con la bacteria.

En los mapas de severidad de la enfermedad se observó que los centros de agregación se ubicaron en la región suroeste de la parcela 1, mientras *Ca. Liberibacter solanacearum* se agregó en la región este de la parcela, con puntos específicos hacia la región suroeste. La ninfa y el adulto se agregaron en la región noreste y sur de la parcela mientras que el huevo se agregó en la región oeste de la misma, (figura 2, pág. 181).

En la parcela 2 los centros de agregación de huevo, ninfa y severidad presentaron un comportamiento espacial similar, ubicándose en el suroeste y noreste de la parcela, pero no se determinó su presencia en la parte central.

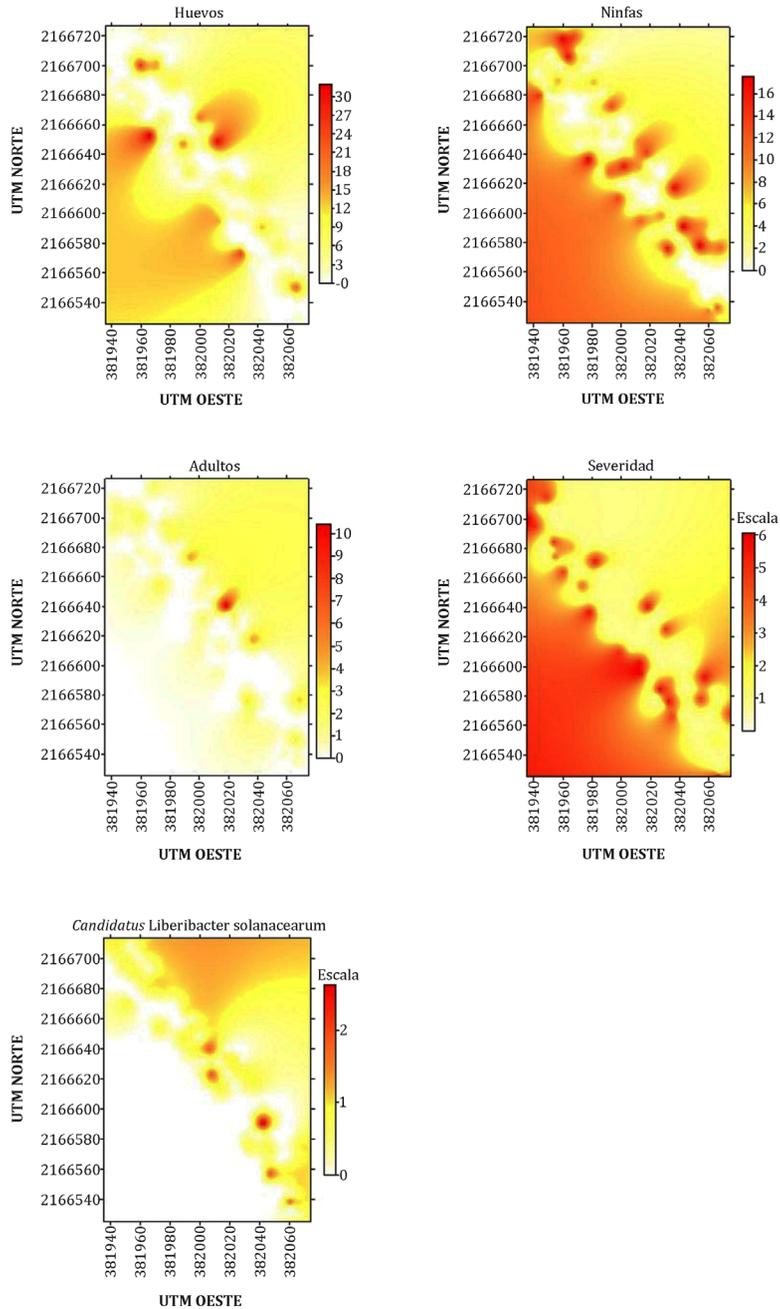
Mientras que para el adulto y la bacteria sus centros de agregación se distribuyeron en la parte noroeste con tendencia hacia el centro de la parcela.

En términos espaciales se observó una similitud en la ubicación dentro de la parcela 2 entre adulto y la presencia de *Ca. Liberibacter solanacearum*. Lo que coincide con Buchman *et al.* (2011), quienes demostraron que el adulto de *B. cockerelli* fue un vector altamente eficiente de *Ca. Liberibacter solanacearum*, (figura 3, pág. 182).



**Figura 2.** Mapas de densidad de huevos, ninfas y adultos de *Bactericera cockerelli*, severidad de la enfermedad y *Candidatus Liberibacter solanacearum*, en la parcela 1 de papa.

**Figure 2.** Density maps of eggs, nymphs and adults of *Bactericera cockerelli*, severity of disease and *Candidatus Liberibacter solanacearum* in potato plot 1.



**Figura 3.** Mapas de densidad de huevos, ninfas y adultos de *Bactericera cockerelli*, severidad de la enfermedad y *Candidatus Liberibacter solanacearum*, en la parcela 2 de papa.

**Figure 3.** Density maps of eggs, nymphs and adults of *Bactericera cockerelli*, severity of disease and *Candidatus Liberibacter solanacearum* in potato plot 2.

## CONCLUSIONES

La distribución espacial de la enfermedad, el patógeno y el vector se presentó en forma agregada.

En la parcela 2 los centros de agregación del estadio adulto y la bacteria presentaron la misma ubicación.

La bacteria se detectó en el 27% de plantas sintomáticas y 14% de asintomáticas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Andrade, A. J.; Capezio, S. B.; Huarte, M. A. 2016. Caracterización de progenitores de papa en base a aptitud combinatoria y heterosis para la búsqueda de resistencia a *Phytophthora infestans*. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 48(1): 9-20.
2. Bové, J. M. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. Journal of Plant Pathology. 88: 7-37.
3. Buchman, J. L.; Heilman, B. E.; Munyaneza, J. E. 2011. Effects of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) density on zebra chip potato disease incidence, potato yield, and tuber processing quality. Journal of Economic Entomology. 104: 1783-1792.
4. Buchman, J. L.; Sengoda, V. G.; Munyaneza, J. E. 2011. Vector transmission efficiency of *Liberibacter* by *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) in zebra chip potato disease: effects of phyllid life stage and inoculation access period. Journal Economic Entomology. 104: 148-1495.
5. Butler, C. D.; Trumble, J. T. 2012. Spatial dispersion and binomial sequential sampling for the potato psyllid (Hemiptera: Triozidae) on potato. Pest Management Science. 68: 865-869.
6. Deng, S.; Hiruki, C. 1991. Amplification of 16S rRNA genes from culturable and nonculturable Mollicutes. Journal of Microbiological Methods. 14: 53-61.
7. Doyle, J. J.; Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus. 12: 13-15.
8. Gundersen, D. E.; Lee, I. M. 1996. Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested PCR assay using two universal primer pairs. Phytopathologia Mediterranea. 35: 144-151.
9. Gutiérrez-Ibañez, A. T.; Laguna-Cerda, A.; Rojas-Martínez, R.; González-Garza, R.; Salgado-Siclán, M. L. 2012. Molecular detection and classification of the phytoplasma that causes purple top in potatoes (*Solanum tuberosum*) in the State of México. Ciencia e Investigación Agraria. 39: 339-346.
10. Hansen, A. K.; Trumble, J. T.; Stouthame, R.; Paine, T. D. 2008. A new huanglongbing species, '*Candidatus Liberibacter phyllaurous*,' found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). Applied Environmental Microbiology. 74: 5862-5865.
11. Isaaks E. H.; Srivastava, R. M. 1989. An Introduction to Applied Geostatistics. Oxford University Press. New York. 561 p.
12. Levy, J.; Ravindran, A.; Gross, D.; Tamborindeguy, C.; Pierson, E. 2011. Translocation of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*', the Zebra Chip pathogen, in potato and tomato. Phytopathology. 101: 1285-1291.
13. Liefting, L. W.; Rez-Egusquiza, Z. C.; Clover, G. R. G.; Anderson, J. A. D. 2008. A new '*Candidatus Liberibacter*' species in *Solanum tuberosum* in New Zealand. Plant Disease. 92: 1474.
14. Liefting, L. W.; Sutherland, P. W.; Ward, L. I.; Paice, K. L.; Weir, B. S.; Clover, G. R. G. 2009. A new '*Candidatus Liberibacter*' species associated with diseases of Solanaceous crops. Plant Disease. 93: 208-214.

15. López-Granados, F.; Jurado-Expósito, M.; Atenciano, S.; García-Ferrer, A.; Sánchez, M.; García-Torres, L. 2002. Spatial variability of agricultural soil parameters in southern Spain. *Plant and Soil*. 246: 97-105.
16. Munyaneza, J. E. 2012. Zebra chip disease of potato: Biology, epidemiology, and management. *American Journal of Potato Research*. 89: 329-350.
17. Munyaneza, J. E.; Crosslin, J. M.; Upton, J. E. 2007. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with "zebra chip", a new potato disease in Southwestern United States and Mexico. *Journal Economic Entomology*. 100: 656-663.
18. Pitman, A. R.; Drayton, G. M.; Kraberger, S. J.; Genet, R. A.; Scott, I. A. W. 2011. Tuber transmission of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" and its association with zebra chip on potato in New Zealand. *European Journal of Plant Pathology*. 129: 389-398.
19. Prager, S. M.; Butler, C. D.; Trumble, J. T. 2013. A sequential binomial sampling plan for potato psyllid (Hemiptera: Triozidae) on bell pepper (*Capsicum annuum*). *Pest Management Science*. 69: 1131-1135.
20. Ramírez-Dávila, J. F.; Figueroa-Figueroa, D. K. 2013. Modelización y mapeo de la distribución espacial de *Bactericera cockerelli* Sulc (Hemiptera: Triozidae) en papa en el Estado de México. *Centro Agrícola*. 40: 57-70.
21. Rossi, R.; Mulla, J.; Journel, G.; Franz, E. 1992. Geostatistical tools for modeling and interpreting ecological spatial dependence. *Ecological Monographs*. 62: 277-314.
22. Rubio-Covarrubias, O. A., Almeyda-León, I. H.; Cadena-Hinojosa, M. A.; Lobato-Sánchez, R. 2011. Relación entre *Bactericera cockerelli* y presencia de *Candidatus Liberibacter phyllaorous* en lotes comerciales de papa. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*. 2: 17-28.
23. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2013. Anuario estadístico de la producción agrícola en México. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx> (fecha de consulta: 22/04/2015).
24. Smart, C. D.; Schneider, B.; Blomquist, C. L.; Guerra, L. J.; Harrison, N. A.; Ahrens, U. 1996. Phytoplasma-specific PCR primers based on sequences of the 16S-23S rRNA spacer region. *Applied and Environmental Microbiology*. 62: 2988-2993.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo a través de la beca de doctorado.

## **Influence of calcium propionate on *in vitro* fermentation of sorghum-based diets**

### **Efecto del propionato de calcio en la fermentación *in vitro* de dietas a base de sorgo**

Luis Alberto Miranda<sup>1</sup>, Héctor Aarón Lee-Rangel<sup>2</sup>, Germán David Mendoza-Martínez<sup>3</sup>, María Magdalena Crosby-Galván<sup>4</sup>, Alejandro Enrique Relling<sup>5,6</sup>, Juan Manuel Pinos-Rodríguez<sup>2</sup>, Rolando Rojo Rubio<sup>7</sup>, Milagros González Hernandez<sup>2</sup>

Originales: *Recepción:* 15/09/2015 - *Aceptación:* 23/10/2015

*Nota científica*

#### **ABSTRACT**

The objective of the present study was to evaluate the effect of calcium propionate (CaPr) on *in vitro* ruminal fermentation using a factorial arrangement 2 x 2 evaluating CaPr (0 vs. 1%) and grain level (55 vs. 65%). There was a CaPr x Grain interaction in the volume of gas produced (V;  $p = 0.04$ ). Addition of CaPr prolonged Lag time (1.4 vs. 1.04 h;  $P < 0.01$ ), and increasing the grain level also prolonged Lag time (1.56 vs. 0.89 h;  $p < 0.03$ ) and gas production rate (0.046 vs. 0.041 h<sup>-1</sup>;  $P < 0.04$ ). However, there were no differences in CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, acetate, propionate and butyrate concentrations. Therefore, the addition of calcium propionate in a diet with 55 or 66% of grain increased Lag phase but it is not affected fermentation pattern or methane losses.

#### **Keywords**

*in vitro* gas production • propionate • grain • fermentation

- 
- 1 Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo 56230, México.
  - 2 Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, 78321. México. hector.lee@uaslp.mx
  - 3 Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, 04960 México.
  - 4 Centro de Ganadería, Colegio de Postgraduados, Montecillo 56230, México.
  - 5 Department of Animal Sciences, The Ohio State University, OARDC, 1680, Wooster 4469, USA.
  - 6 CONICET; Laboratorio de Nutrición Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. La Plata B1900AVW, Argentina.
  - 7 Centro Universitario UAEM Temascaltepec, Universidad Autónoma del Estado de México, Temascaltepec 51300, México.

## RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar *in vitro* el efecto de la adición de propionato de Ca (PrCa). El diseño experimental fue completamente al azar con un arreglo factorial 2x2; PrCa (0 o 1%) y grano (55 o 65%). Se encontró diferencias ( $p > 0,05$ ) entre tratamientos para volumen de gas, pero la tasa de producción de gas no fue diferente ( $p < 0,05$ ), se observó un efecto por parte del grano ( $p < 0,04$ ). La adición de PrCa prolongó el tiempo Lag (1,4 vs. 1.04 h;  $P < 0,01$ ) y aumentando el nivel de grano también prolongó la fase Lag (1,56 vs. 0,89 h;  $P < 0,03$ ) y la tasa de producción de gas (0,046 vs. 0,041 h<sup>-1</sup>;  $P < 0,04$ ). Sin embargo, no hubo diferencias en la concentración de CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>, ni de propionato, acetato y butirato. La adición de propionato de calcio a una dieta con 55 o 65% de grano prolonga la fase Lag pero no afecta el patrón de fermentación o las pérdidas de metano.

### Palabras clave

gas *in vitro* • propionato • grano • fermentación

## INTRODUCTION

In intensive production systems it is important to evaluate metabolic modifiers to maximize energy intake (7) and frequently uses different levels of grain. The fermentable carbohydrates of these diets produce volatile fatty acids (VFA) (12), as an end product of the fermentation, where 95% of these VFA are represented by acetate, propionate and butyrate (11). The inclusion of grains is desirable to promote more propionic in the fermentation because it is an important glucose precursor (2). This makes it a metabolic mediator (1). The increase in propionate production in diets that are rich in highly fermentable carbohydrates has been associated with an increase in animal performance (3).

In ruminants, the increase of glucose precursors, such as propionate, could optimize nutrient use and thus improve production (9). Furthermore, there is also an improvement in energy use when the end product is propionate (6). The additions of propylene glycol presented the lowest volume of gas production

and the short lag time (7) therefore it was expected that inclusion of calcium propionate could reduce methane and the volume of gas production, and be metabolized rapidly reducing lag time in the diet fermentation. Therefore, the objective of the present study was to evaluate the *in vitro* fermentation of lambs with two levels of grain containing different amounts of calcium propionate.

## MATERIALS AND METHODS

### Fermentation substrates

The fermentation substrates were randomly assigned to one of four treatments (diets, table 1, page 187): (1) 650 g/kg grain (450 sorghum + 200 corn) and 0 g/kg Ca propionate (780 g/kg propionic acid); (2) 550 g/kg grain (350 sorghum + 200 corn) and 0 g/kg Ca-Pr; (3) 650 g/kg grain (450 sorghum + 200 corn) and 10 g/kg Ca-Pr; (4) 550 g/kg grain (350 sorghum + 200 corn) and 10 g/kg Ca-Pr.

**Table 1.** Experimental diets and chemical composition

**Tabla 1.** Dieta experimental y composición química.

	0% Ca-Pr		1% Ca-Pr	
	65% grain	55% grain	65% grain	55% grain
Dry matter basis, g/kg				
Sorghum grain	450	350	450	350
Corn stover	200	20	20	20
Molasses	100	10	10	10
Soybean meal	70	85	70	85
Urea	10	10	10	10
Minerals <sup>1</sup>	10	10	10	10
Ca propionate <sup>2</sup>	0	0	10	10
Acid buff <sup>3</sup>	5	5	5	5
Chemical composition (g/kg DM)				
Dry matter	873	878	874	879
Crude protein	156	144	156	144
NDF	193	273	168	252
ADF	95	145	80	153
Starch	438	385	446	374

Ca-Pr: calcium propionate; DM: dry matter; NDF: neutral detergent fibre; ADF: acid detergent fibre.

<sup>1</sup> Ca 27%, P 3%, Mg 0.75%, Na 6.55%, Cl 10%, K 0.05, S 42 ppm, lasalocid 2000 ppm, Mn 2000 ppm, Fe 978 ppm, Fe 3000 ppm, Se 20 ppm, Co 15 ppm, vitamin A 35000 IU, vitamin D 150000 IU and vitamin E 150 IU.

<sup>2</sup> 78% propionic acid and 22% Ca.

<sup>3</sup> CaCO<sub>3</sub> 750 g and MgCO<sub>3</sub> 190 g.

Ca-Pr: propionato de calcio; DM: materia seca; NDF: fibra detergente neutro; ADF: fibra detergente ácido.

<sup>1</sup> Ca 27%, P 3%, Mg 0,75%, Na 6,55%, Cl 10%, K 0,05, S 42 ppm, lasalocida 2000 ppm, Mn 2000 ppm, Fe 978 ppm, Fe 3000 ppm, Se 20 ppm, Co 15 ppm, vitamina A 35000 UI, vitamina D 150000 UI y vitamina E 150 IU.

<sup>2</sup> 78% ácido propionico y 22% Ca.

<sup>3</sup> CaCO<sub>3</sub> 750 gy MgCO<sub>3</sub> 190 g.

The manufacturer of the calcium propionate was Alimentaria Mexicana Bekarem, S.A. de C.V. from México, D.F. For the experiments, 1 kg of each diet was prepared. Feed samples were dried at 55°C for 24 hours and ground into 1-mm-sized pieces.

### Culture media

The culture media used were similar as the one described by Cobos and Yokoyama (1995). Briefly, they contained: mineral solution I (6 g of K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> in 1 L of distilled water), mineral solution II (6 g of K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 6 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 12 g NaCl; 2.45 g MgSO<sub>4</sub>; and 1.6 g CaClH<sub>2</sub>O in 1 L of distilled water), 18% sodium carbonate buffer solution, reduced cysteine solution (2.5 g of L-cysteine in 15 ml of NaOH (2N)), 2.5 g of Na<sub>2</sub>S and 0.1 ml of rezarsurin (1%).

### Inoculum and inoculation

Ruminal fluid was obtained from two Suffolk wethers with an average weight of 45 kg, fed with a diet containing 50% corn silage and 50% corn grain, using a vacuum pump, the rumen fluid from both donors was mixed to homogenized before the incubation. Donors were not fed with calcium propionate. After the fluid was obtained it was filtered through gauze, and kept at 39°C until later use.

The ruminal fluid was added to the culture media at a final concentration of 10% (13). A total of 0.5 g of dry feed was added to a 120 ml vial with 90 ml of the culture medium plus 9 ml inoculum, and vials with only the 90 ml of inoculum were used as controls. The vials were incubated in water bath at 39°C.

### Gas production

Gas production was measured at different times using a hypodermic needle connected to a 0–1 kg/cm<sup>2</sup> gauge inserted in the vial plug. The pressure was measured at 0.5, 1, 2, 4, 6, 9, 12, 16, 36, and 48 hours after incubation. The pressure (kg/cm<sup>2</sup>) was converted to volume and accumulated gas production with the model proposed by Menke and Steingass (1988):

$$Y = v / (1 + \exp(2 \cdot 4 \cdot s \cdot (t - L)))$$

where:

Y= total gas produced

v= volume

s= gas production rate

t= time

L= lag phase; all these parameters were estimated.

### Volatile fatty acids

Eight vials were incubated for each treatment for inoculum sampling. Samples were collected from eight

repetitions of each treatment (inoculum, 2 ml per replication) after 24 hours of fermentation. The samples were acidified with metaphosphoric acid (25%) to stop microbial activity, and frozen until further analysis. The samples were centrifuged at 5000 rpm for 10 min, and the supernatant was used to measure concentrations of VFA, by gas chromatography (5).

Volatile fatty acid (propionate, acetate and butyrate) concentrations were determined by chromatography on a Supelco-29329, 30 m 0.53 mm 0.10-mm column (Sigma Aldrich Canada, Oakville, ON, Canada) installed in a gas chromatograph (Agilent 6890, Agilent United States, Santa Clara, CA, USA) by flame ionization detection. Volatile fatty acids from the ruminal liquid samples were identified by comparison with retention times of known standards (Sigma Aldrich Canada).

A temperature-programmed cycle from 90 to 130°C, rising by 4°C per minute, was used. The injection block was maintained at 265 °C to provide rapid vaporization of the injected fluid. Nitrogen was used as a carrier gas with a flow rate of 60 ml per minute.

The hydrogen flow rate to the detector was 50 ml. per minute, and the air flow was 380 ml per minute. Under these conditions, the analysis of a rumen fluid sample requires about 8 minutes from acetic to butyric acid. Concentrations of CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> were calculated as described by (Russell and Strobel, 1989).

### Variables of gas production

The gas production technique was used to evaluate the fermentation. The samples of diet were placed in amber glass jars with a capacity of 125 mL: 2.5 g for the humid ones and 0.5 g for the dry ones, six teen samples for each treatment were

incubated; 90 mL of standardized ruminal liquid was added, with a continuous flow of CO<sub>2</sub>, and the jars were sealed.

The variables of the gas production kinetics: maximum volume of gas produced (Vmax), lag phase (L) and gas production rate (S), were found with a logistical model. Gas volume data and incubation time were used to obtain the parameters of kinetics of gas production: maximum volume of gas produced (Vm), lag phase (L) and rate of gas production (S) using the logistic model  $V_0 = V_m / (1 + \exp(2-4 * s * (t-L)))$ .

**Statistical analysis**

The results were analyzed as a completely randomized design with a 2 x 2 factorial arrangement of the treatments (with amount of grain and propionate

as main factors) using the PROC GLM statistical software (19).

The volume of gas produced, gas production rate and initial gas production were calculated using the PROC NLIN BEST method (19).

**RESULTS AND DISCUSSION**

The lag phase was prolonged with higher levels of grain (1.32 vs. 1.86) and with the addition of CaPr (0.76 vs. 1.03) (table 2). Mertens and Loften (1980) noted that lag time increased as starch was added to the substrate under constant pH. Oliveira *et al.* (2011) observed that the addition of propionic acid increased the initial gas production, which do not coincide with the results found in this experiment.

**Table 2.** *In vitro* cumulative gas production and estimated kinetic parameter model for feed with two levels of sorghum grain and calcium propionate.

**Tabla 2.** Producción de gas acumulado y parámetros de cinética *in vitro* para alimentos con dos niveles de grano de sorgo y propionato de calcio.

	0% CaPr		1% CaPr	
	65% grain	55% grain	65% grain	55% grain
Lag time (h)	1.32	0.76	1.80	1.03
Volume of gas produced (V) mL	421.02	396.73	414.32	420.01
Gas production rate (R), h <sup>-1</sup>	0.044	0.040	0.048	0.043
CH <sub>4</sub> mol/100mmol VFA	34.20	34.34	33.65	34.00
CO <sub>2</sub> mol/100mmol VFA	56.59	56.51	55.87	55.78

	SEM	Significance		
		Grain	CaPr	Grain x CaPr
Lag time (h)	0.17	0.03	0.01	0.55
Volume of gas produced (V) mL	6.95	0.19	0.24	0.04
Gas production rate (R), h <sup>-1</sup>	0.001	0.04	0.08	0.24
CH <sub>4</sub> mol/100mmol VFA	2.05	0.76	0.34	0.13
CO <sub>2</sub> mol/100mmol VFA	1.08	0.34	0.72	0.46

Ca-Pr: calcium propionate; SEM: standard error of the mean; P-value (P<0.05); Values of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> were calculated as described by Wolin (1960).

Ca-Pr: propionato de calcio; SEM: error estándar de la media; Valor de P (P<0,05); Valores de CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub> fueron calculados por ecuaciones descritas por Wolin (1960).

Differences may be because the dissociation of Ca propionate contributed to VFA in a minor proportion than propionic acid and the calcium released (17.4 mg/L of soluble Ca) may have other effects as a nutrient for *Fibrobacter succinogenes* (6, 8).

However, in this study, osmotic pressure could be increased affecting microbial growth and lag time, resulting in similar conditions like those when a grain of fats rate of starch digestion is increased in the diet (12).

The volume of gas produced showed an interaction CaPr and grain, maintaining the same volume when samples were incubated with CaPr. The CaPr did not affect gas production rate, which was higher with 65% than 55% of grain (0.045 vs. 0.044/h respectively) (table 2, page 189). Ferraro *et al.* (2009) found a long lag

time and a low gas production using gluconeogenic precursors including propylene glycol. That partially coincides with our results. Different substrates may result in varied fermentation kinetics, particularly in the gas production rate and its lag phase (7).

De Visser *et al.* (1998) found a longer lag phase by supplementing rumen-degradable starch, as it was observed in this study when adding higher amounts of grain (4). Mertens and Loften (1980) found a positive relationship between grain proportion and lag phase ( $r=0.9$ ) (14).

The estimated production of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> were not affected ( $p > 0.05$ ) by the grain level, or by the addition of propionate. Regarding to fermentation patterns, the molar concentrations of acetic acid, butyric acid, propionic acid and total acids showed no significant differences ( $p > 0.05$ ) (table 3).

**Table 3.** *In vitro* fermentation pattern for feed with two levels of sorghum grain and calcium propionate.

**Tabla 3.** Concentración ruminal de ácidos grasos volátiles de fermentación *in vitro* para alimentos con dos niveles de grano de sorgo y propionato de calcio.

	0% CaPr		1% CaPr	
	65% grain	55% grain	65% grain	55% grain
VFA (mol/100 mol)				
Acetate	67.07	67.39	66.74	67.34
Propionate	21.06	20.87	21.90	21.33
Butyrate	11.86	11.73	11.34	11.21
VFA Total mmol/L	26.48	25.75	23.81	25.56

	SEM	Significance		
		Grain	CaPr	Grain x CaPr
VFA (mol/100 mol)				
Acetate	26.48	0.34	0.79	0.57
Propionate	26.48	0.15	0.65	0.20
Butyrate	26.48	0.45	0.52	0.84
VFA Total mmol/L	2.34	0.28	0.56	0.74

Ca-Pr: calcium propionate; SEM: standard error of the mean; Volatile Fatty Acids; *P*-value ( $P < 0.05$ ).

Ca-Pr: propionato de calcio; SEM: error estándar de la media; VFA: Ácidos grasos volátiles;

Valor de *P* ( $P < 0,05$ ).

The calcium propionate added in the diet contributes only 0.003 mmol/L and quantified AGVt production was 0.25 mmol/L and that this could not be expected to have modified this variable.

Nevertheless, *in vitro* study showed that both Ca propionate and CaCO<sub>3</sub> increased total VFA in ruminal cultures but only Ca propionate increased ruminal propionate, butyrate and valerate (6) and one experiment with steers, supplemental Ca propionate resulted in greater proportions of propionate compared to CaCO<sub>3</sub> and also increased ruminal soluble calcium (9).

Although no methane was measured most of the experiments the VFA patterns allow to conclude on methane emission with the addition of calcium propionate. Lee *et al.* (2012) observed a reduction in the acetate by adding calcium propionate and this was also observed by Ferraro *et al.* (2009) with propionate precursors in *in vitro* studies where propionate was increased. It has been demonstrated that altering rumen fermentation pattern may affect CH<sub>4</sub> production (21).

The addition of organic acids (aspartate, fumarate and malate) in the diet increased the molar concentration of propionate and decreased CH<sub>4</sub> concentrations in rumen (11). Trabue *et al.* (2007) noted that the use of glucogenic precursors reduced acetate concentrations. Lee *et al.* (2012) observed the highest molar concentrations of propionate in sheep fed with high-grain diets plus calcium propionate as compared to the same diets without calcium propionate. Similarly, adding various doses of propionic acid *in vitro* increased its concentration which was not metabolized by microorganisms. Higher doses of propionic acid inhibited growth of some bacteria (7).

## CONCLUSIONS

The addition of calcium propionate to a diet with 55 or 65% grain, under *in vitro* conditions, extended the Lag time of gas production. However, it does not affect the *in vitro* VFA concentrations and methane produced.

## REFERENCES

1. Bertics, S. J.; Grummer, R. R.; Cadorniga-Valino, C.; Stoddard, E. E. 1992. Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *Journal of Dairy Science*. 75: 1914-1922.
2. Bradford, B. J.; Allen, M. S. 2007. Phlorizin administration does not attenuate hypophagia induced by intraruminal propionate infusion in lactating dairy. *The Journal of Nutrition*. 137(2): 326-330.
3. Cobos, M.; Yokoyama, M. 1995. *Clostridium paraputrificum* var *ruminantium*: colonization and degradation of shrimp carapaces *in vitro* observed by scanning electron microscopy. *Proceedings of a Workshop*. Addis Ababa, Ethiopia. International Livestock Research Institute. p. 151-161.
4. De Visser, H.; Klop, A.; Van Der Koelen C. J.; Van Vuuren, A. M. 1998. Starch supplementation of grass harvested at two stages of maturity prior to ensiling: intake, digestion, and degradability by dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 81: 2221-2227.
5. Erwin, E. S.; Marco, G. J.; Emery, E. M. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science*. 44: 1768-1771.

6. Fellner V; J. W. Spears. 2005. Effect of calcium propionate on ruminal soluble calcium and microbial fermentation. North Carolina State University. Animal Science Departmental Report. 2004-2005. Disponible en: [http://www.ncsu.edu/project/swine\\_extension/swinereports/2004-2005/beefcattle/nutrition/fellner.htm](http://www.ncsu.edu/project/swine_extension/swinereports/2004-2005/beefcattle/nutrition/fellner.htm) (fecha de consulta: 07/09/2015).
7. Ferraro, S. M.; Mendoza, G. D.; Miranda, L. A.; Gutiérrez, C. G. 2009. *In vitro* gas production and ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses. *Animal Feed Science and Technology*. 154: 112-118.
8. Grilli, D.; Egea, V.; Paez Lama, S.; Carcaño, D.; Allegretti, L; Sosa Escudero, M.; Arenas, G. N. 2015. Degradación y utilización de la hemicelulosa contenida en especies forrajeras por *Pseudobutyrvibrio ruminis* y *Pseudobutyrvibrio xylanivorans*. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 47(2): 231-243.
9. Jean, B. E. 2005. Effect of calcium supplementation on ruminal soluble calcium concentrations and ruminal fermentation. Thesis M.Sc. North Carolina State University. USA. 58 p.
10. Lee-Rangel, H. A.; Mendoza, G. D.; González, S. S. 2012. Effect of calcium propionate and sorghum level on lamb performance. *Animal Feed Science and Technology*. 177: 237-241.
11. Martin, S. A. 1998. Manipulation of ruminal fermentation with organic acids: a review. *Journal of Animal Science*. 76: 3123-3132.
12. Mendoza, G. D.; Britton, R. A.; Stock, R. A. 1999. Effect of feeding mixtures of high moisture corn and dry-rolled grain sorghum on ruminal fermentation and starch digestion. *Small Ruminant Research* 32: 113-118.
13. Menke, K. H.; Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*. 28: 9-52.
14. Mertens, D. R.; Often, J. R. 1980. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics *in vitro*. *Journal of Dairy Science*. 63: 1437-1446.
15. Oliveira, J. S., Queiroz, A. C., Mantovani, H. C., Melo, M. R., Detmann, E., Santos, E. M., Viana Bayão, G. F. 2011. Effect of propionic and lactic acids on *in vitro* ruminal bacteria growth. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40: 1121-1127.
16. Orskov, E. R.; Grubb, D. A.; Smith, J. S.; Webster, A. J.; Corrigan, W. 1979. Efficiency of utilization of volatile fatty acids for maintenance and energy retention in sheep. *British Journal of Nutrition*. 41: 541-551.
17. Peters, J. P.; Leedle, J. A.; Paulissen, J. B. 1989. Factors affecting the *in vitro* production of volatile fatty acids by mixed bacterial populations from the bovine rumen. *Journal of Animal Science*. 67: 1593-1602.
18. Russell, J. B.; Strobel, H. J. 1989. Effect of ionophores on ruminal fermentation. *Applied Environmental Microbiology*. 55: 1-6.
19. SAS 2002. User's Guide: Statistics (Release 8.02). SAS Inst., Inc., Cary, NC, USA.
20. Trabue, S., Scoggin, K., Tjandrakusuma, S., Rasmussen, M. A., Reilly, P. J. 2007. Ruminal fermentation of propylene glycol and glycerol. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 55: 7043-7051.
21. Wolin, M.J. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of Dairy Science*. 43: 1452-1459.

## Nuevos registros de dos especies de *Toxotrypana* (Diptera: Tephritidae) en la Argentina

### New records of two species of *Toxotrypana* (Diptera: Tephritidae) in Argentina

Isabel Bertolaccini <sup>1</sup>, Damian Castro <sup>1,2</sup>, María Cecilia Curis <sup>1</sup>, Roberto A. Zucchi <sup>3</sup>

Originales: *Recepción*: 23/02/2016 - *Aceptación*: 19/05/2016

*Nota científica*

#### RESUMEN

En este estudio se dan a conocer nuevos registros y se extiende la distribución geográfica de *Toxotrypana australis* Blanchard y *T. nigra* Blanchard en la Argentina.

#### Palabras clave

moscas de las frutas • trampas • *Toxotrypana australis* • *Toxotrypana nigra*

---

1 Universidad Nacional del Litoral. Facultad de Ciencias Agrarias. Padre Luis Kreder 2805 (3080). Esperanza, Santa Fe, Argentina.

2 Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Universidad Nacional del Litoral, Facultad de Ciencias Agrarias. Padre Luis Kreder 2805 (3080). Esperanza, Santa Fe, Argentina. dcastro@fca.unl.edu.ar

3 Departamento de Entomología e Acarología, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Av. Pádua Dias 11, 13418-900 Piracicaba, Sao Paulo, Brasil.

## ABSTRACT

In this study are disclosed new records that extend the geographical distribution of *Toxotrypana australis* Blanchard and *T. nigra* Blanchard, in Argentina.

### Keywords

fruit fly • traps • *Toxotrypana australis* • *Toxotrypana nigra*

## INTRODUCCIÓN

Las "moscas de las frutas" (Diptera, Tephritidae) constituyen una de las plagas agrícolas más destructivas que limitan el comercio internacional de productos frutihortícolas, por imposición de restricciones cuarentenarias. Dentro de las moscas de la fruta de importancia económica, presentes en la región neotropical, se pueden distinguir tres géneros nativos: *Anastrepha*, *Rhagoletis* y *Toxotrypana* y dos géneros exóticos: *Bactrocera* y *Ceratitis* (3, 5).

Las especies de *Toxotrypana* que se conocen en la Argentina fueron descritas por Blanchard (1960), catalogadas por Foote (1967) y también citadas por Bartolucci (2008). Entre ellas se encuentran: *T. australis* Blanchard presente en Tucumán, Corrientes, Buenos Aires y Santiago del Estero; *T. littoralis* Blanchard en Corrientes; *T. picciola* Blanchard en Tucumán; *T. proseni* Blanchard en Jujuy y Buenos Aires; *T. pseudopicciola* en Córdoba y *T. nigra* en Jujuy y Entre Ríos (2, 6). Blanchard (1960) también describió a *T. pseudopicciola*, de Córdoba, actualmente considerada sinónimo de *T. nigra*, según Norrbom *et al.* (1999b). Ninguna de ellas reviste importancia económica, por no ser consideradas plagas de los frutales. *Toxotrypana littoralis* se extiende al norte hasta Guatemala (7), en tanto *T. curvicauda* Gerstaecker se encuentra presente en el sur de los Estados Unidos (Texas; introducida

a Florida), México, América Central, y el norte de América del Sur (7). Esta especie ha sido muy estudiada dado que es una de las principales plagas de *Carica papaya* L., sin embargo no ha sido citada aún en la Argentina. Tigrero (1992) describió a *T. recurcauda* de Ecuador, sobre *C. papaya* y *Annona cherimola* Miller.

### Objetivo

Registrar por primera vez la ocurrencia de *Toxotrypana australis* Blanchard y *T. nigra* Blanchard en la provincia de Santa Fe.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron recolecciones periódicas durante el año 2010 en un monte frutal comercial de la ciudad de Esperanza (provincia de Santa Fe) (31°39'35" S; 60°56'04,68" O) que cuenta con 6 hectáreas de superficie, de las cuales se destinan: 2,5 ha a durazno; 1,4 ha a cítricos; 0,45 ha a manzanos y 0,3 ha a higos, el resto de la superficie está destinada a construcciones, caminos, etc.

El objetivo original del monitoreo fue la captura de moscas de los frutos, de los géneros *Anastrepha* y *Ceratitis*, cuyas presencias en la zona ya se habían determinado. Para ello se construyeron trampas con botellas plásticas de 1500 mL de capacidad con tres perforaciones equidis-

tantes de 1,5 cm, a los 15 cm desde la base del recipiente. En el interior se colocó un volumen de 500 mL de atrayente alimentario preparado a base de vinagre de vino diluido con agua al 50%.

Las trampas fueron colocadas en plantas de naranjos a 1,5 m sobre el nivel del piso, sobre el lado este del dosel.

Las revisiones se realizaron semanalmente, momento en el cual se renovó el atrayente alimentario. Los representantes fueron colocados en alcohol 70° en recipientes plásticos herméticos de 5 mL, donde se conservaron para la posterior identificación.

Actualmente, los especímenes recolectados se encuentran en la colección

entomológica de la Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP, Brasil.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se capturaron dos hembras del género *Toxotrypana*, durante mayo de 2010, una perteneciente a *T. australis* (figura 1) y la otra a *T. nigra* (figura 2).

La recolección de ejemplares de *Toxotrypana* no es muy común y siempre el número de individuos capturados es bajo.

Con este hallazgo se amplía la distribución de estas especies en Argentina registrándolas por primera vez en Santa Fe.



**Figura 1 / Figure 1.** *Toxotrypana australis*.



**Figura 2 / Figure 2.** *Toxotrypana nigra*.

Ambas fotos se encuentran en distintas escalas. / Both photos are at different scales.

De acuerdo con Blanchard (1960), los hospederos de ambas especies (*T. australis* y *T. nigra*) son las enredaderas nativas del género *Morrenia* (conocidas vulgarmente como "Tasi") de la familia Apocynaceae, con distribución natural en la provincia de Santa Fe, entre otras, razón por la cual sería importante recolectar frutos atacados con estas moscas con el objetivo de confirmar su estatus como plantas hospederas.

Hasta el momento, la única especie de *Toxotrypana* registrada, después del trabajo de Blanchard (1960), fue *T. proseni* en la provincia de Jujuy (6).

En el presente estudio, se capturó el segundo espécimen hembra de *T. nigra* en el país, puesto que el registro previo de esta especie también correspondía al holotipo hembra.

Por lo tanto, a partir de los resultados del presente estudio se amplía la distribución geográfica de *T. australis* y de *T. nigra* en la Argentina, ya que estas especies no habían sido mencionadas antes en la zona central de Santa Fe.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bartolucci, A. F. 2008. Tephritidae. En: Claps, L. E.; G. Debandi & S. A. Roig-Juñent (Dirs.), Biodiversidad de los artrópodos argentinos. Editorial Sociedad Entomológica Argentina. 2: 271-279.
2. Blanchard, E. E. 1960. El género *Toxotrypana* en la República Argentina (Diptera, Trypetidae). Acta Zoológica Lilloana 17: 33-44.
3. Fletcher, B. S. 1989. Life history strategies of tephritid fruit fly. En: Robinson A.S. & G. Hooper (Eds.). Fruit flies, their biology, natural enemies and control. Vol 3. A. Elsevier. Amsterdam. 372 p.
4. Foote, R. 1967. Family Tephritidae. In: A catalogue of the Diptera of the Americas south of the United States. Ed. by Vanzolini, P.; Papavero, N. Dept. Zool. Agr., Sao Paulo, Brasil. Fasc. 57: 1-91.
5. Lobos Aguirre, C. 1997. Distribución y registros de las principales especies de las moscas de las frutas (Diptera: Tephritidae) en los países suramericanos. IICA, Lima Perú 63 p. Disponible en: <http://repiica.iica.int/docs/B1487e/B1487e.pdf> (Fecha de consulta: 30/6/ 2014).
6. Manero, E. A.; Muruaga de L' Argentier, S.; Vilte, H. A. 1989. Moscas de los frutos (Diptera, Trypetidae), presentes en durazneros de León y Quebrada de Humahuaca, Provincia de Jujuy, República Argentina. CIRPON. Revista de Investigación (Argentina) 7:7-26.
7. Norrbom, A. L.; Carroll, L. E.; Thompson, F. C.; White, I. M.; Freidberg, A. 1999a. Systematic database of names. In: Thompson, F. C. (Ed.), Fruit Fly Expert Identification System and Systematic Information Database. Myia (1998), 9: 65-251, Diptera Data Dissemination Disk (CD-ROM) (1998), 1.
8. Norrbom, A. L.; Zucchi, R. A.; Hernández-Ortiz, V. 1999b. Phylogeny of the genera *Anastrepha* and *Toxotrypana* (Trypetinae: Toxotrypanini) based on morphology. In: Aluja, M.; Norrbom, A. L. (eds.). Fruit flies (Tephritidae): Phylogeny and evolution of behavior. CRC Press. 944p.
9. Tigrero, J. O. 1992. Descripción de dos nuevas especies de Tephritidae: Toxotrypaninae, presentes en Ecuador. Rev. Rumipamba 9(2): 102-112.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Allen Norrbom, por los comentarios en la versión preliminar de la nota científica.

A Regina C.B. de Moraes, por las fotografías de los especímenes.

Los recursos para el presente trabajo fueron aportados por la Universidad Nacional del Litoral a través del programa CAI+D (Proyecto 501 201101 00009 LI).

## ¿Es posible determinar azúcares reductores en vinos por el método Fehling Causse Bonnans, sin utilizar acetato neutro de plomo?

### Is it possible measure reducing sugar in wines by Fehling Causse Bonnans method, without using neutral lead acetate?

David Cobos <sup>1,2</sup>, Laura Germano <sup>1</sup>, Emiliano Malovini <sup>3</sup>, Silvia Paladino <sup>4</sup>

Originales: *Recepción:* 24/08/2015 - *Aceptación:* 18/06/2016

*Nota científica*

#### RESUMEN

El método oficial argentino para determinar el contenido de azúcares reductores en mostos y vinos es el método Fehling Causse Bonnans. Este método implica la defecación de la muestra para obtener una solución azucarada decolorada y límpida. Para ello se emplea carbón activado y acetato de plomo. Son conocidos los efectos de la intoxicación con plomo en seres humanos y animales, así como en el ambiente, de modo que es necesario minimizar su uso para lograr una producción sustentable. Se analizaron 149 vinos y 67 mostos. En cada una de las muestras se efectuaron dos determinaciones de azúcares reductores, diferenciadas por la forma de efectuar la defecación: a) empleando 5 mL de acetato de plomo al 25% y 0,5 g de carbón activado y b) empleando 5 mL de agua destilada y 0,5 g de carbón activado. Los datos se procesaron efectuando análisis de regresión simple lineal. Se concluye que puede eliminarse el uso de acetato de plomo en el tratamiento previo de las muestras de mostos y vinos para determinar azúcares reductores por el método de Fehling Causse Bonnans. La defecación de la muestra se realiza empleando solo carbón vegetal activado. Esta modificación de la técnica original permite eliminar el empleo de sales de plomo y la contaminación que ello implica, sin incurrir en errores apreciables en la medida de los azúcares reductores.

#### Palabras clave

técnicas analíticas • vino • Fehling Causse Bonnans • azúcares reductores • plomo

- 
- 1 Instituto Nacional de Vitivinicultura, Laboratorio General, Sede Central.
  - 2 Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Mendoza, Departamento Enología, Cátedra Laboratorio de Enología.
  - 3 Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Cátedra de Fisiología Vegetal. Instituto de Biología Agrícola de Mendoza. CONICET.
  - 4 Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Cátedra de Enología I. Alte. Brown 500. Chacras de Coria. Mendoza. Argentina. M5528AHB. spaladino@fca.uncu.edu.ar

## ABSTRACT

The Argentine official method to determine the content of reducing sugars in musts and wines is the Causse Bonnans Fehling method. This method requires a sample treatment to obtain a decolorized and clear solution. Activated charcoal and lead acetate are used for this procedure. The effects of lead poisoning in humans, animals and the environment are known, so it is necessary to minimize their use to achieve sustainable production. Reducing sugars were analyzed in 149 wines and 67 grape musts. For each sample, two different treatments were used: a) 5 mL of lead acetate at 25% and 0.5 g of activated charcoal and b) adding 5 mL of distilled water and 0.5 g of activated carbon. The data were processed by performing simple linear regression analysis. Lead acetate can be eliminated in the pretreatment of must and wine samples to determine reducing sugars by Fehling Bonnans Causse method. This modification of the original technique eliminates the use of lead salts and pollution involved, without faults in the measurement of the reducing sugars.

### Keywords

analytical techniques • wine • Fehling CausseBonnans • reducing sugars • lead

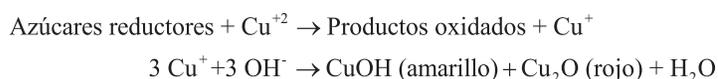
## INTRODUCCIÓN

En el año 2015 Argentina produjo 13.360.000 hectolitros de vino, en 884 bodegas, según el Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV). El método oficial argentino para determinar el contenido de azúcares reductores en mostos y vinos es el método Fehling Causse Bonnans, que fue adoptado en mayo de 1938 por la Dirección Nacional de Química, organismo preexistente al INV (4). Este método también se cita en el Reglamento Vitivinícola Del Mercosur (11), redactado en 1996.

Existen diferentes formas de determinar azúcares reductores en vinos, tales como los métodos de Lane-Eynon y Rebelein, que se basan en el mismo principio que

el método de Fehling Causse Bonnans. El fundamento es la reacción de los azúcares reductores con el cobre en medio alcalino, en caliente. También existen métodos que permiten determinar el contenido de cada azúcar en particular, tales como los métodos enzimáticos y los cromatográficos, como la Cromatografía líquida de alta presión (HPLC), con distintos tipos de detectores, por ejemplo, Índice de Refracción (RI) (7).

Un azúcar reductor es aquel que contiene funciones aldehído o cetona en forma libre, capaces de ser oxidadas. Los azúcares reductores, tales como glucosa y fructosa, reducen al  $\text{Cu}^{+2}$  a  $\text{Cu}^+$  en medio alcalino, a temperatura de ebullición, de acuerdo con la siguiente reacción:



El tartrato de sodio y potasio se incluye en el reactivo de Fehling Causse Bonnans para facilitar la separación del precipitado de  $\text{Cu}_2\text{O}$ , mientras que se mantienen en solución los productos de la oxidación de los azúcares y el cobre que aún no ha sido reducido. El complejo  $\text{Cu}^{+2}$ -tartrato formado es estable aún a altas temperaturas de reacción. El cobre reducido no se combina con el tartrato y precipita rápidamente (14).

Dado que el punto final de este tipo de análisis implica el desarrollo de un color particular, es necesario trabajar con soluciones azucaradas desprovistas de sustancias extrañas, que puedan reaccionar de modo análogo a los azúcares, introduciendo errores por exceso en la determinación. Es especialmente necesario evitar la presencia de polifenoles, ya que presentan poder reductor. Para ello se lleva a cabo el proceso denominado defecación de la muestra. Este tratamiento tiene por objeto obtener una solución azucarada decolorada, límpida y que conserve esta limpidez durante el tiempo necesario para efectuar el análisis. La defecación requerida para el método de Fehling Causse Bonnans se efectúa empleando carbón activado y acetato de plomo (12). El acetato de plomo se prepara al 25% y se emplea a razón de 10% (10 mL cada 90 mL de vino a analizar) en cada muestra (2). Durante la elaboración del vino y hasta su salida al fraccionamiento, la determinación de azúcares reductores se realiza varias veces en cada vasija de vino. Esto implica verter a los desagües un gran volumen de líquidos que contienen plomo.

El plomo (Pb) es un elemento muy abundante en la naturaleza, se obtiene a partir de la galena (SPb, sulfuro de plomo).

Este metal se usa desde la antigüedad, debido a sus características de maleabilidad y ductilidad.

La intoxicación por Pb también se conoce desde hace mucho tiempo. Hipócrates (460 antes de Cristo) ya describe el cólico saturnino.

El Pb puede ser inhalado y absorbido a través del sistema respiratorio o ingerido y absorbido por el tracto gastrointestinal. La absorción percutánea del Pb inorgánico también es posible. Luego de su absorción, el Pb circula en sangre unido a los glóbulos rojos; se distribuye a los tejidos blandos como hígado, riñón, médula ósea y sistema nervioso central, causando diferentes efectos. Se altera la maduración de los glóbulos rojos, provocando anemia. En el sistema nervioso, el metabolismo de la acetilcolina se modifica, disminuyendo la velocidad del impulso nervioso. La afectación del sistema renal es progresiva, causando nefritis crónica. En el tejido óseo desplaza el calcio de los huesos, para depositarse en ellos, con lo que aumenta la fragilidad de los mismos. El Pb produce hipertensión y aumenta el riesgo cardiovascular por afectación renal y por aumento de la resistencia vascular. Además produce alteraciones del ritmo cardíaco (6). El Pb cruza la placenta y la barrera hemato-encefálica. Finalmente se excreta por orina en un 90%, y en menor cantidad en la bilis, piel, cabello, uñas, sudor y leche materna (10). El nivel sanguíneo de Pb materno aumenta el riesgo fetal y de alteraciones neurológicas en los recién nacidos. Los embarazos con niveles elevados de Pb en la sangre tienen un riesgo mayor de partos prematuros, abortos espontáneos, muertes fetales y de recién nacidos con peso bajo para su edad gestacional (10).

La actividad humana libera grandes cantidades de metales, sobre todo al suelo. El exceso de  $\text{Pb}^{+2}$  resulta tóxico para las plantas, especialmente en suelos ácidos; afecta tanto el crecimiento

como la formación de raíces laterales y secundarias. Además la acumulación de  $Cd^{+2}$  ó  $Pb^{+2}$  supone un peligro adicional al integrarse en la cadena trófica (3).

Dados los efectos conocidos de la intoxicación con Pb en seres humanos y animales, así como en la contaminación de suelo y agua, es necesario minimizar su utilización en los análisis químicos en la industria vitivinícola, con el objetivo de lograr una producción sustentable, con mínimo impacto sobre el ambiente.

### Hipótesis

Determinar azúcares reductores en mostos y vinos sin emplear acetato de plomo en la defecación de la muestra, sin que por ello resulte alterado el resultado cuantitativo del análisis.

### Objetivo

Comparar los resultados de la determinación de azúcares reductores en vinos y mostos empleando acetato de plomo junto con carbón activado en el proceso de defecación, con aquellos vinos y mostos en los que la defecación de la muestra se ha realizado sin acetato de plomo, usando solo carbón activado.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron 149 muestras de vinos y 67 de mostos (concentrados y sin concentrar). Los diferentes vinos analizados se pueden clasificar en cuanto a su color: 14% rosados, 35% blancos, 51% tintos; en cuanto a su contenido de azúcares: 12% dulces, 46% abocados y 42% secos; y en cuanto a su contenido de  $CO_2$ : 72% tranquilos y 28% espumosos.

Los análisis se realizaron en el laboratorio general, sede central del Instituto Nacional de Vitivinicultura. El método de Fehling Causse Bonnans fue empleado para la determinación de azúcares reductores. En cada una de las muestras se efectuaron dos determinaciones de azúcares reductores. Estas determinaciones se diferenciaron en la forma de efectuar la defecación de la muestra, en forma previa a la titulación. Esta defecación se efectuó de dos maneras: a) empleando 5 mL de acetato de plomo al 25% y 0,5 g de carbón activado y b) empleando 5 mL de agua destilada y 0,5 g de carbón activado. Luego de 15 minutos de reposo, las muestras se filtraron con papel de filtro de poro mediano (Whatman N° 40). Con este filtrado se tituló el licor de Fehling Causse Bonnans, procediendo de la siguiente forma: el filtrado se colocó en una bureta acodada. En un erlenmeyer se colocaron 15 mL de licor de Fehling Causse Bonnans y 50 ml de agua destilada. Luego de homogeneizar la mezcla, se calentó sobre mechero hasta lograr la ebullición. Llegado este punto, se inició la titulación con un ritmo de 2 gotas por segundo. Se tituló sobre el fuego, la agitación se produjo por efecto de la ebullición. El ritmo de goteo fue tal que no se interrumpiera la ebullición, por el descenso de temperatura debido al volumen de filtrado agregado. Se continuó la titulación hasta que el color del Licor de Fehling Causse Bonnans cambió de azul a celeste claro, en ese momento se agregaron dos gotas de azul de metileno al 1%. Este indicador permite observar con mayor exactitud el viraje. Se prosiguió titulando hasta la aparición de una mancha amarilla, que luego se generalizó a toda la masa. La concentración de azúcares reductores se calculó del siguiente modo:

$$\text{Azúcares reductores } \frac{g}{L} = 0,041 \times \frac{1000}{N} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{D} = \times \frac{45,1}{N} \times \frac{1}{D}$$

donde:

0,041 = representa los gramos de azúcar invertido, contenidos en 8,2 mL de Licor de Neubauer (solución de azúcar invertido 5 g/L), que reaccionan con 15 mL de Licor de FehlingCausseBonnans

N = volumen de filtrado consumido en la titulación

la fracción 11/10 = dilución realizada por el agregado de acetato de plomo

D = es la dilución del filtrado

Los datos obtenidos se procesaron estadísticamente aplicando regresión simple lineal, con el programa Statgraphics plus<sup>(C)</sup> 4.0. copyright 1994-1999 by Statistical Graphics Corp. USA.

## RESULTADOS

### Vinos

Se determinó azúcares reductores en 149 vinos, empleando las dos variantes de tratamiento previo de la muestra. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico de regresión simple lineal. Se obtuvo la ecuación 1.

Puesto que el valor de probabilidad (P) en la tabla análisis de la varianza es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre el contenido de azúcares reductores en vino sin emplear acetato de

plomo en la defecación y el contenido de azúcares reductores en vino empleando acetato de plomo en la defecación, con un nivel de confianza del 95,0%.

El coeficiente de determinación  $R^2$  indica que la variable Azúcares Reductores sin Acetato de Plomo permite explicar en un 99,86% la variable Azúcares Reductores con acetato de plomo (figura 1, pág. 202), ecuación 2.

### Mostos

Se determinó azúcares reductores en 67mostos, empleando las dos variantes de tratamiento previo de la muestra. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico de regresión simple lineal. Se obtuvo la ecuación 3.

Puesto que el valor de probabilidad (P) en la tabla Análisis de la varianza es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre el contenido de Azúcares reductores en vino sin emplear acetato de plomo en la defecación y el contenido de azúcares reductores en vino empleando acetato de plomo en la defecación, con un nivel de confianza del 95,0% (ecuación 4).

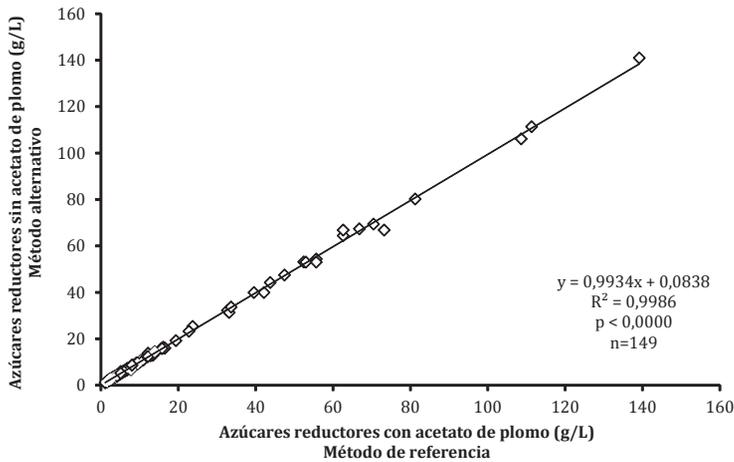
El coeficiente de determinación  $R^2$  indica que la variable Azúcares Reductores sin Acetato de Plomo permite explicar en un 99,77% la variable Azúcares Reductores con acetato de plomo (figura 2, pág. 202).

$$\text{Az.Red. (g/L) sin acetato de plomo} = 0,9934^* \text{Az. Red. (g/L) con acetato de plomo} + 0,0838 \quad (1)$$

$$R^2(\text{coeficiente de determinación}) = 99,86\% \quad (2)$$

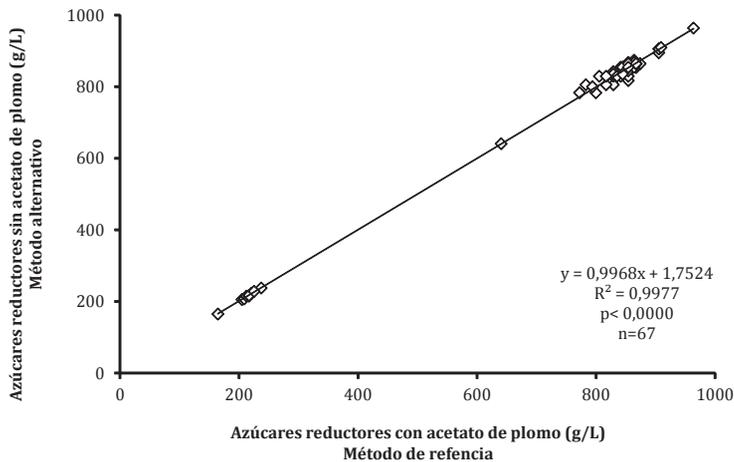
$$\text{Az. reductores (g/L) sin acetato de plomo} = 0,9968^* \text{Az. Red. (g/L) con acetato de plomo} + 1,7524 \quad (3)$$

$$R^2(\text{coeficiente de determinación}) = 99,77\% \quad (4)$$



**Figura 1.** Regresión en vinos.

**Figure 1.** Regression in wines.



**Figura 2.** Regresión en mostos.

**Figure 2.** Regression in Grape Must.

## DISCUSIÓN

La defecación con acetato de plomo no es la única vía para obtener un filtrado límpido. Browne y Zerban (1948) postulan que el uso de acetato de plomo como clarificante, causa una precipitación y oclusión de azúcares

reductores en el precipitado de sales de plomo; esta precipitación es importante, oscilando de 3 a 17% para glucosa, y 8 a 35 % para fructosa si se emplea acetato básico de plomo. Si se utiliza acetato neutro de plomo, las precipitaciones se

reducen a 0,9% para glucosa y 0% para fructosa. Estos autores indican que en algunos casos, se puede evitar el uso de acetato de plomo, reemplazándolo por kieselguhr o alúmina. Se demuestra que el error causado por omitir la defecación con acetato de plomo no excede el error experimental de la determinación, en el caso de azúcar de caña (sacarosa), pero es necesario defecar con plomo cuando se analizan melazas.

P. Jaulmes (1951) indica que en forma previa a la reacción con el licor cúprico de la muestra, es necesario eliminar las sustancias no azucaradas que puedan reducir al cobre, en particular las pectinas y los taninos. Para ello se decolora el vino, se defeca el vino con licores plúmbicos o mercúricos, o por adsorción del tanato de zinc debido al ferrocianuro de zinc. El uso del plomo y carbón activado genera pérdidas apreciables de fructosa. El zinc resulta adecuado para vinos dulces poco coloreados y mostos, pero la decoloración es incompleta en vinos tintos.

J. Ribéreau Gayon y E. Peynaud (1958) sostienen que el empleo de un método químico de valoración de los azúcares exige que se opere con soluciones azucaradas despojadas de sustancias extrañas, en particular polifenoles. Tales soluciones deben estar perfectamente decoloradas, limpias y conservar su limpidez durante el tiempo necesario. La precisión de los resultados depende de la defecación del vino. Para ello indican tres posibilidades 1) para una prueba rápida, la decoloración con carbón; 2) para una valoración rigurosa, la defecación con acetato de plomo y 3) para mayor precisión, usar defecación con sales mercúricas. El carbón puede retener azúcares cuando se usa en fuertes dosis para los vinos tintos. El acetato de plomo también puede arrastrar pequeñas cantidades de fructosa y glucosa, la defecación

no es completa y debe complementarse con carbón, las soluciones decoloradas se enturbian pronto si no se acidulan. Por estas razones se sugiere defecar con sales mercúricas, ya sea sulfato o acetato mercúrico. J. Ribéreau Gayon *et al.* (1972), citan para la defecación el uso de resinas intercambiadoras de aniones, óxido de mercurio, acetato neutro de plomo y ferrocianuro de zinc.

Ough y Amerine (1988) citan el uso de acetato de plomo, acetato básico de plomo y ferrocianuro de zinc como agentes para la defecación de las soluciones azucaradas.

Madrid Cenzano *et al.* (2003), proponen hacer la defecación de los vinos con acetato de plomo, pero sugieren emplear una defecación con hexacianoferrato (III) de cinc en vinos blancos, vinos dulces poco coloreados y mostos, sin fundamentar la elección de este método.

Esto permite considerar que no es indispensable el empleo de acetato de plomo en el pretratamiento de una muestra, para determinar en forma exacta el contenido de azúcares reductores de un mosto o un vino.

## CONCLUSIONES

Dada la relación establecida entre el método de referencia y el método alternativo, se considera que puede eliminarse el uso de acetato de plomo en el tratamiento previo de las muestras de mostos y vinos, para determinar azúcares reductores por el método de Fehling Causse Bonnans. La defecación de la muestra se realiza empleando solo carbón vegetal activado. Esta modificación de la técnica original permite eliminar el empleo de sales de plomo y la contaminación que ello implica, sin incurrir en errores apreciables en la medida de los azúcares reductores.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Browne, C. A.; Zerban, F. W. 1948. Physical and Chemical methods of sugar analysis. Wiley&Sons, Chapman &Hall, London. p. 641-651; 744-774; 786-803.
2. Fernández, Nora M. de; Zeballos, C. H. 1972. Manual del Enólogo. Imp. Regalado, Mendoza, Argentina. p. 69-89.
3. García Vargas, D. 2006. Efectos fisiológicos y compartimentación radicular en plantas de *Zea mays* L. expuestas a la toxicidad por plomo. Tesis. Universidad Autónoma de Barcelona, España. p. 14-15.
4. Instituto Nacional de Vitivinicultura. 2013. Tolerancias analíticas y resoluciones reglamentarias. Disponible en: <http://www.inv.gov.ar>. Fecha de la consulta: 30 de julio de 2015.
5. Jaulmes, P. 1951. Analyse des vins. Librairie Poulain, Montpellier, France. p. 170-177.
6. Labanda Urbano, P. H.; Fernández García, C. 2012. Saturnismo, a propósito de un caso. Medicina y Seguridad del Trabajo. Madrid. 58(227): 168-173.
7. Luque de Castro, M. D.; González Rodríguez, J.; Pérez Juan, P. 2005. Analytical methods in wineries. Is it time to change? Food Reviews International. 21(2): 231-265.
8. Madrid Cenzano, J.; Madrid Vicente, A.; Moreno Tejero, G. 2003. Análisis de vinos, mostos y alcoholes. AMV ediciones. Mundi Prensa, Madrid, España. p. 156-164.
9. Ough, C. S.; Amerine, M. 1988. Methods for analysis of musts and wines. University of California, Wiley, New York, USA. p. 39-48.
10. Poma, P. Intoxicación por plomo en humanos. 2008. An. Fac. Med. V. 69 N°2. Lima, Perú. Valdivia Infantas, Melinda. Intoxicación por plomo. Rev. Soc. Per. Med. Inter. 2005. 18(1): 123-125.
11. Reglamento Vitivinícola del Mercosur. 1996. p. 16-17.
12. Ribéreau Gayon, J.; Peynaud, E. Análisis de vinos. 1958. Editorial Aguilar. Madrid. p. 219-222.
13. Ribéreau Gayon, J.; Peynaud, E.; Sudraud, P. Ribéreau Gayon, P. 1972. Tratado de Enología, Ciencias y técnicas del vino. Tomo I: Análisis y Control de los vinos. Editorial Hemisferio Sur, Argentina. p. 282-283.
14. Zoecklein, B. W.; Fugelsang, K.C.; Gump, B.; Nury, F. S. 1994. Wine analysis and production. Chapman &Hall, New York. p. 89-96.

## **Salinización del suelo en tierras secas irrigadas: perspectivas de restauración en Cuyo, Argentina**

### **Soil salinization in irrigated drylands: prospects for restoration in Cuyo, Argentina**

Bárbara Guida-Johnson <sup>1,2,\*</sup>, Elena M. Abraham <sup>1</sup>, Mariano A. Cony <sup>1</sup>

Originales: *Recepción:* 11/12/2015 - *Aceptación:* 25/10/2016

#### **RESUMEN**

Las tierras secas se caracterizan, entre otras cosas, por presentar precipitaciones escasas y suelos con insuficiente agua. En estas regiones, la producción agrícola depende del riego sistematizado que transforma los ecosistemas naturales en áreas irrigadas cultivables, tal como ocurre en la región de Cuyo, en el centro-oeste de Argentina. Aunque estos territorios constituyen el soporte de la mayoría de la población, frecuentemente se asocian con procesos de degradación. Una de las principales consecuencias de la agricultura no sustentable es la salinización del suelo, la cual se produce a causa del reemplazo de la vegetación nativa perenne de raíces profundas por cultivos anuales de raíces poco profundas o bien como consecuencia del riego excesivo y la falta de drenaje adecuado. La salinización constituye un problema a escala mundial, dado que reduce la productividad de grandes áreas cultivables, disminuye el valor de la tierra y conduce a su abandono. En este contexto, la restauración de ecosistemas representa un abordaje estratégico para revertir la degradación de estas tierras, recuperar servicios y promover la conservación de ecosistemas áridos a escala regional. En este trabajo se revisan los factores, tanto aquellos vinculados con el medio biofísico como los determinados por las actividades antrópicas, que fueron asociados con la salinización en distintas regiones, así como las medidas implementadas para rehabilitar estos ambientes. Asimismo, se revisa la terminología vinculada con la práctica de la restauración y se propone una alternativa apropiada para explorar este abordaje en Cuyo: la restauración productiva con especies del género *Prosopis*.

#### **Palabras clave**

oasis • restauración productiva • salinización secundaria • sustentabilidad

- 
- 1 Instituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas (IADIZA), Universidad Nacional de Cuyo, Gobierno de Mendoza, CONICET. Av. Ruiz Leal s/n Parque General San Martín (5500) Mendoza; bguidaj@mendoza-conicet.gob.ar
  - 2 Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

## ABSTRACT

Drylands are characterized among other things by low rainfall and soils with insufficient water. In these regions, agricultural production depends on irrigation, which transforms arid ecosystems into irrigated arable areas, as in the Cuyo region, in the central-western Argentina. Although these lands support the majority of the population, they are often associated with degradation processes. One of the main consequences of unsustainable agriculture is soil salinization, which occurs either because perennial deep-rooted native vegetation is replaced by annual crops or as a result of excessive irrigation and deficient drainage. Salinization is a global problem, since it reduces the productivity of large arable areas, decreases land value and leads to their abandonment. In this context, ecosystem restoration is a strategic approach to reverse the degradation of irrigated drylands, recover services and promote the conservation of arid ecosystems at the regional scale. In this paper we review the factors, both those linked to the biophysical environment and those determined by human activities, which are associated with salinization in different regions, as well as the implemented measures for rehabilitating these environments. Furthermore, the terminology associated with the practice of restoration is revised and a suitable alternative for exploring this approach in Cuyo is proposed: the productive restoration using species of the *Prosopis* genus.

### Keywords

oasis • productive restoration • secondary salinization • sustainability

### Ocupación, uso y degradación de las tierras secas

De acuerdo con la definición de la Convención de Naciones Unidas para Combatir la Desertificación (UNCCD), las tierras secas incluyen regiones de clima hiperárido, árido, semiárido y subhúmedo seco (3, 39), representando el 41% de la superficie terrestre y el 69% del territorio nacional (2, 30). Se caracterizan por presentar precipitaciones escasas, poco frecuentes e irregulares, gran amplitud térmica entre el día y la noche, y suelos con bajos contenidos de materia orgánica y agua (40). Los principales atributos del recurso hídrico en estas regiones son tres: (a) el agua se constituye como el factor limitante que controla los procesos biológicos, (b) las precipitaciones presentan gran variabilidad anual, ocurriendo en eventos poco frecuentes

y discretos, y (c) dicha variabilidad incluye una importante componente de azar (29). Esta disponibilidad limitada y estacional del recurso hídrico, sumada a la baja productividad primaria y el suelo poco desarrollado con bajo contenido de materia orgánica, determinan la inherente fragilidad de los ecosistemas áridos (23).

En este contexto, la producción agrícola depende del riego sistematizado y del aporte externo de nutrientes, el cual transforma estos ecosistemas en áreas irrigadas cultivables, conocidas como "oasis". En la región de Cuyo en particular, localizada en el centro-oeste de Argentina aproximadamente entre las latitudes 27°43'1,22" S y 37°34'15,78" S y las longitudes 64°54'2,34" O y 70°33'46,14" O, la irrigación de las tierras secas se realiza

con agua proveniente del deshielo de las nieves cordilleranas, complementada con agua subterránea (1). De hecho, Mendoza fue una de las primeras provincias en utilizar el agua subterránea para riego durante el siglo pasado y es uno de los mayores consumidores del país (8). En la década del 50 comenzó este tipo de extracción, alcanzando los aproximadamente 19.000 pozos que existen actualmente (24). Si bien los oasis tienen una extensión territorial limitada, cumplen un rol fundamental en la vida de la población local. En Mendoza por ejemplo, constituyen el soporte del 98,5% de la población representando el 4,5% de la superficie (4).

En esta provincia, la ampliación de la frontera agropecuaria implicó una mayor demanda y competencia por el agua (37), con un mal manejo de este recurso por pérdidas en el sistema de conducción. Simultáneamente, la mayor parte de las prácticas agrícolas que se desarrollaron trajeron una variedad de consecuencias sobre el suelo (2), determinando que el 60% de los oasis mendocinos presentaran procesos de degradación en mayor o menor medida (4). Como resultado, se redujo o perdió la productividad de estas tierras, conduciendo a su sobre-explotación y en ocasiones, a su abandono (2).

#### **Una consecuencia de la agricultura no sustentable: la salinización del suelo**

La salinización es el proceso de acumulación de sales en el perfil del suelo, distinguiéndose dos tipos: primaria y secundaria (6, 47). La primera es resultado del proceso natural que se desarrolla en zonas donde el material parental es rico en sales y la tasa de evapotranspiración es mayor que la tasa de precipitación. Otros factores que pueden inducir la salinización son determinados patrones naturales de drenaje o rasgos

topográficos, la estructura geológica o la distancia al mar. Por su parte, la acumulación de sales que se produce como consecuencia de las actividades antrópicas no sustentables es conocida como salinización secundaria. Esta puede ser explicada a partir de dos desencadenantes y, por lo tanto, se la divide a su vez en dos tipos: de tierras secas no irrigadas o por irrigación (33, 36, 47). Por un lado, la salinización de tierras secas no irrigadas se produce a causa del reemplazo de la vegetación nativa perenne de raíces profundas por cultivos anuales de raíces poco profundas. La reducción de la evapotranspiración altera el balance natural del agua y produce un ascenso del nivel freático. La acumulación de sales provenientes del agua subterránea dependerá de las propiedades hidráulicas del suelo y de las condiciones climáticas. Por otro lado, la salinización por irrigación se produce como consecuencia del riego excesivo y la falta de drenaje adecuado. Este proceso puede ser acelerado por la baja calidad del agua de irrigación, baja conductividad hidráulica y condiciones de alta evaporación. En las zonas áridas y semiáridas, al irrigar se varía el régimen de humedad edáfica y el agua que no es utilizada por los cultivos escurre sub-superficialmente. En los sectores con estratos transmisores impermeables se eleva el nivel freático y cuando el agua subterránea llega por ascenso capilar a la zona radicular o a la superficie, se evapora depositando las sales que lleva disueltas (2).

En el mundo se han documentado diversos casos en los cuales la producción agrícola en tierras secas ha conducido a la degradación del suelo a partir de la salinización secundaria. De esta manera, se asoció dicho proceso con determinadas variables explicativas en distintos estudios en Canadá (17), Australia (25),

Uzbekistán (16, 18), Irán (26), China (44, 46, 47), e incluso Argentina (28). Estas variables se distinguen entre aquellas que corresponden a atributos del medio biofísico que contribuyen a su vulnerabilidad frente a la salinización, y aquellas que se vinculan con la presión ejercida por las actividades humanas no sustentables sobre estos ambientes (tabla 1). Asimismo, algunas variables se encuentran directamente relacionadas con la ocurrencia de sales en el ambiente (denominadas variables "estado"); mientras

que otras facilitan o aceleran el proceso que conduce a la salinización, es decir, el ascenso del nivel freático ("proceso"). Mediante el apoyo de sistemas de información geográfica, estas variables espacialmente explícitas permiten modelar el riesgo de salinización e identificar sitios vulnerables, lo cual constituye una herramienta fundamental para asistir a la toma de decisión y la implementación de políticas de manejo sustentable del territorio (38, 44, 47).

**Tabla 1.** Variables asociadas con la salinización secundaria: vinculadas con atributos del medio biofísico o a la presión ejercida por las actividades antrópicas y relacionadas con la ocurrencia de sales en el ambiente (estado) o con el ascenso del nivel freático (proceso).

**Table 1.** Variables associated with secondary salinization: including variables related to attributes of the biophysical environmental or to the pressure exerted by anthropogenic activities and variables related to the occurrence of salts in the environment (state) or to the rising of the water table (process).

	Estado	Proceso
<b>Medio biofísico</b>	Material parental	Relación entre precipitaciones y evapotranspiración
	Intrusiones marinas	Relación entre precipitaciones y temperatura
	Tipo de suelo	Discontinuidades estructurales
	Distancia a áreas salinizadas	Discontinuidades texturales
	Salinidad del agua subterránea	Topografía
	Distancia a zonas de recarga de acuíferos	Microtopografía
<b>Presión humana</b>	Salinidad del agua de riego	Elevación
		Pendiente
		Capacidad de drenaje del suelo
		Profundidad del nivel freático
		Reemplazo y/o pérdida de vegetación natural
		Uso del suelo
		Volumen de agua de riego
		Distancia a canales de irrigación
		Calidad del sistema de drenaje
		Distancia a canales de drenaje

### **El enfoque de la restauración ecológica y otras prácticas asociadas**

La UNCCD propuso el objetivo de alcanzar una tasa cero de degradación de tierras para el año 2030. Esto implicaría que la desertificación debe ser evitada, o bien compensada a través de la restauración de las tierras degradadas (41). De acuerdo con la Sociedad Internacional para la Restauración Ecológica (SER), la *restauración* es una actividad deliberada que inicia o acelera la recuperación de un ecosistema que ha sido degradado, transformado e incluso totalmente destruido como resultado directo o indirecto de las actividades del hombre, con el objetivo de restablecer su integridad, resiliencia y sustentabilidad (34). De esta forma, la restauración en sentido estricto pretende devolver el ecosistema degradado a su estado prístino, lo cual en la mayoría de las circunstancias es impracticable o insostenible. Por su parte, la restauración en sentido amplio, también denominada *rehabilitación*, propone devolver ese ecosistema a uno de sus posibles estados estables, a una versión simplificada (7), o a una condición pre-disturbio. La rehabilitación utiliza, al igual que la restauración en sentido estricto, al ecosistema histórico como un modelo, el cual se conoce como ecosistema de referencia. Sin embargo, solo intenta recuperar procesos, funciones, productividad y/o servicios, sin pretender volver a ese estado prístino, ni recomponer exactamente la composición específica ni la estructura de la comunidad original. Otras actividades vinculadas con la recuperación de ecosistemas incluyen (12, 34): la *reclamación*, término utilizado en el contexto de la minería, cuyo objetivo principal es el retorno de las tierras a un propósito útil dentro del contexto regional; la *remediación*, que implica la remoción de contaminantes

del medio ambiente y, por ende, pone el énfasis en el proceso más que en el estado final; la *mitigación*, que incluye acciones que simplemente compensan daños ambientales; y la *creación*, término aplicado a proyectos de mitigación en sitios que han sido completamente desprovistos de vegetación. Probablemente en virtud del desarrollo reciente de la disciplina, es posible advertir cierta falta de consenso con respecto a la utilización de los términos en las distintas experiencias.

Dos aspectos claves en la formulación de cualquier proyecto de restauración son la definición de los objetivos y de las medidas a implementar. En el caso de la recuperación de tierras secas irrigadas degradadas, es importante destacar que el objetivo no es devolver el sitio a su estado prístino. En su lugar, se propone rehabilitar procesos o servicios como una parte integral de la conservación de ecosistemas áridos a escala regional (34). Si se considera que la degradación de áreas cultivables implica su abandono al convertirse en improductivas, esto necesariamente implica la transformación de nuevas tierras para su aprovechamiento. De esta manera, la restauración de las áreas irrigadas degradadas contribuye a una planificación territorial que articula la relación oasis-secano en un proceso de complementación y no de competencia (2). Por otra parte, las medidas definidas para rehabilitar suelos afectados por salinización secundaria deben incluir acciones que reduzcan el ascenso del nivel freático, promuevan la infiltración y mejoren sus condiciones físicas y químicas (35). En cada caso, las medidas que mejor se ajusten estarán asociadas con los mecanismos que promovieron la salinización en primer lugar. De esta manera, una medida apropiada para restaurar suelos salinizados a causa del reemplazo de la cobertura natural será la

reincorporación de especies perennes en los sistemas agrícolas; mientras que en el caso de salinización por irrigación, las medidas se vincularán con la mejora del manejo del riego y su drenaje (9, 47).

Sin embargo, considerando que la instalación de un sistema de drenaje puede resultar en algunas circunstancias económicamente inviable, se exploró la potencialidad de la reforestación para promover el descenso del nivel freático. Este efecto, conocido como "biodrenaje" (32), obtuvo resultados variables sobre el control de la salinización. Si bien se asoció el control del nivel freático con un descenso en la concentración de sales bajo plantaciones forestales (14), también pudo detectarse una disminución de la salinidad sin observarse un descenso del nivel freático, lo cual fue explicado por la continua recarga lateral (21). A la inversa, también se produjo un descenso del nivel freático bajo una plantación, con un cono de depresión similar al causado por un pozo de bombeo, sin poder relacionarlo con el nivel de salinidad (32). Incluso, se llegó a registrar un proceso de salinización provocado por una forestación implantada sobre pastizales naturales (28). Considerando que las plantaciones de árboles tienen una capacidad de transpiración 70% superior que la de pastizales o cultivos, si esta mayor demanda se suple con aguas subterráneas poco profundas puede desencadenar la salinización del suelo, a partir de una inversión en el gradiente hidráulico (22).

Otro abordaje potencial sería promover la movilización de las sales en el suelo. Esto puede conseguirse a través de medidas que mejoren la estructura del mismo, favoreciendo la infiltración y lixiviación de sales. Una medida de restauración apropiada para esto es la revegetación con especies halófitas debido a las condiciones extremas impuestas por

la salinidad. De esta forma, se registraría una disminución de la salinidad, siendo el efecto más pronunciado cerca de la superficie debido a una mayor acumulación de materia orgánica a partir de la hojarasca (10). Sin embargo, en caso de optar por especies no halófitas para revegetar, se recomienda inocularlas con organismos simbiotes para mejorar su supervivencia. De esta manera, se observó que tanto en el caso de la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares (45), como con bacterias de la rizósfera (27), dichos mutualismos mejoraron la supervivencia, crecimiento y reproducción asexual de las plantas, posiblemente a partir del incremento de la absorción selectiva de nutrientes, lo cual alivia los efectos deletéreos de los suelos salinos.

Finalmente, otra alternativa para disminuir la concentración de sales en el suelo es la fitorremediación. Como ya fue mencionado, la remediación implica la remoción de contaminantes del medio ambiente. En este caso, se utilizan especies vegetales halófitas por su carácter de bio-acumuladoras, aprovechando los mecanismos que utilizan naturalmente para compartimentar las sales y sobrevivir en estas condiciones (20). Esta capacidad bio-acumuladora puede ser confirmada detectando una disminución en la concentración de sales en el suelo, conjuntamente con un aumento de la misma en los tejidos vegetales. Esto pudo ser corroborado para diferentes especies, tanto nativas como exóticas, ya sea en condiciones controladas de invernadero y en ausencia de lixiviación (31), como en experimentos realizados a campo (19).

En este trabajo se valoró el potencial relativo de estas medidas de restauración de suelos para la región de Cuyo, considerando que en este caso la salinización secundaria en el área irrigada se desencadena a causa

del mal manejo del riego. En este sentido, se consideró que las medidas con mayor nivel de aplicabilidad (potencial relativo alto) serían aquellas que actuasen sobre el nivel freático. Por el contrario, las medidas con menor nivel de aplicabilidad (potencial relativo medio y bajo) serían las que actuasen únicamente sobre las consecuencias del proceso, es decir, sobre la concentración de sales en el suelo (tabla 2).

**Perspectivas de recuperación en Cuyo: la restauración productiva**

En este contexto, un enfoque interesante para explorar en la región de Cuyo es el de la restauración productiva. Esta implica la recuperación de algunos elementos de la estructura y función del ecosistema original, junto con una producción sustentable que genere bienes económicos para la población

local (13). Considerando la potencialidad del biodrenaje para promover el descenso del nivel freático, conjuntamente con los efectos de la revegetación sobre la estructura del suelo, los árboles y arbustos del género *Prosopis* son excelentes candidatos para rehabilitar suelos salinizados con fines productivos (15, 35). Estas especies presentan una variedad de adaptaciones a las condiciones ambientales severas de los ecosistemas áridos, existiendo evidencia de que muchas toleran la salinidad. Además, revisten importancia económica para los habitantes de las zonas rurales (43). Los usos tradicionales de estos árboles y arbustos incluyen la provisión de sombra, alimento, forraje, leña, postes, madera y carbón; y potencialmente podrían ser utilizadas para producir una goma sustituta de la goma arábrica (42).

**Tabla 2.** Ventajas, desventajas y aplicabilidad de las potenciales medidas para restaurar suelos salinizados en la región de Cuyo.

**Table 2.** Advantages, disadvantages and applicability of potential measures to restore salinized soils in the Cuyo region.

Medida de restauración	Mecanismo	Ventajas	Desventajas	Potencial relativo para Cuyo
Reforestación (biodrenaje)	Promueve el descenso del nivel freático.	Medida asociada al proceso que promovió la salinización.	Posible interacción con otros mecanismos (p.e. recarga lateral).	Alto
Revegetación	Mejoran la estructura del suelo.	Favorece la infiltración y lixiviación de sales.	No tienen efectos sobre proceso que promovió la salinización.	Bajo
Revegetación con simbiontes		Favorece la infiltración y lixiviación de sales. Mejora la supervivencia de las plantas.		Efectos limitados a la zona de la raíz.
Fitorremediación	Remoción de sales del suelo.	Medida que actúa directamente sobre el contaminante.	No tiene efectos sobre proceso que promovió la salinización. Efectos limitados a la zona de la raíz.	Medio

Finalmente, cabe destacar la importancia de incorporar la percepción de los agricultores locales como una dimensión adicional durante la planificación de la restauración y la generación de recomendaciones de manejo. Considerando que tanto el manejo de la irrigación como la incorporación de especies leñosas para rehabilitar el suelo, implican cambios o ajustes en los sistemas de producción, la dimensión social no puede ser desatendida. Como es ampliamente reconocido, la aceptación y el apoyo de los actores sociales clave son decisivos para asegurar el éxito de cualquier proyecto de restauración (5, 11). En este contexto, esto es particularmente importante dado que algunas de las especies propuestas pueden ser rechazadas en virtud de su baja rentabilidad (9). En términos generales, la participación pública brinda oportunidades para identificar y abordar las preocupaciones de la comunidad local, considerando sus preferencias (11).

El desarrollo de la restauración ecológica en Argentina comenzó en los años 90's con proyectos localizados principalmente en regiones áridas y semiáridas, asociados a la recuperación de ecosistemas degradados por minería, explotación petrolera o ganadería (48). La Red de Restauración Ecológica de Argentina

(REA), creada en 2012 (48), puede constituirse como un espacio apropiado para discutir y consensuar la terminología utilizada en el contexto de esta disciplina, así como los abordajes metodológicos que mejor se adaptan para recuperar los ecosistemas argentinos, en su realidad socio-económica. Una dimensión aún pendiente por explorar en Argentina es la recuperación de sitios degradados por las actividades agrícolas y, en particular, la rehabilitación de tierras secas irrigadas. Deben invertirse especiales esfuerzos para indagar la percepción de los productores locales en cuanto al estado de degradación del suelo y sus causas, la pérdida de procesos o servicios, y la potencial aceptación de las medidas de restauración propuestas. Considerando la situación de los oasis salinizados en Cuyo, un abordaje especialmente prometedor es el de la restauración productiva con especies del género *Prosopis*. En este sentido, y considerando las características morfofisiológicas de los algarrobos, es importante investigar los efectos de estas especies sobre el nivel freático, la estructura del suelo y la concentración de sales, para así poder evaluar, con mayor precisión, su potencial para la restauración de suelos en estas tierras secas irrigadas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Abraham, E. M. 2000. Recursos y problemas ambientales de la provincia de Mendoza. In: Abraham, E. M.; Rodríguez Martínez, F. editors. Argentina: recursos y problemas ambientales de la zona árida. Primera parte: Provincias de Mendoza, San Juan y la Rioja. Caracterización ambiental. Vol. Tomo I. GTZ, IDR (Univ. Granada), IADIZA, SDSyPA, Argentina. 15-24.
2. Abraham, E. M. 2002. Lucha contra la desertificación en las tierras secas de Argentina. El caso de Mendoza. En: Fernández Cirelli, A.; Abraham, E. M. editors. El agua en Iberoamérica. De la escasez a la desertificación. Cooperación Iberoamericana CYTED Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo, Buenos Aires. 27-44.
3. Abraham, E. M. 2011. Desertification monitoring and assessment in Argentina. In: Winslow, M.; Sommer, S.; Bigas, H.; Martius, C.; Vogt, J.; Akhtar-Schuster, M.; Thomas, R. editors. Understanding Desertification and Land Degradation Trends. Dryland Science for Development Consortium. Proceedings of the UNCCD First Scientific Conference. Buenos Aires, Argentina.

4. Abraham, E. M.; Soria, D.; Rubio, C.; Rubio, M. C.; Virgillito, J. 2014. Modelo Territorial Actual, Mendoza, Argentina. Subsistema Físico-Biológico o Natural de la Provincia de Mendoza. Proyecto Ordenamiento Territorial para un Desarrollo Sustentable, PID-2009-00008. Disponible en: [www.mendoza-conicet.gob.ar/otm](http://www.mendoza-conicet.gob.ar/otm)
5. Abraham, E. M.; Guevara, J. C.; Candia, R. J.; Soria, N. D. 2016. Dust storms, drought and desertification in the Southwest of Buenos Aires Province, Argentina. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina.* 48(2): 221-241.
6. Amezketa, E. 2006. An integrated methodology for assessing soil salinization, a pre-condition for land desertification. *J. Arid Environ.* 67(4): 594-606.
7. Aronson, J.; Floret, C.; Floc'h, E. Le; Ovalle, C.; Pontanier, R. 1993. Restoration and rehabilitation of degraded ecosystems in arid and semi-arid lands. I. A view from the South. *Restor. Ecol.* 1(1): 8-17.
8. Auge M. 2004. Regiones hidrogeológicas. República Argentina y provincias de Buenos Aires, Mendoza y Santa Fe. La Plata. 111 p. Disponible en: [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/15909/Documento\\_completo.pdf?sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/15909/Documento_completo.pdf?sequence=1)
9. Barrett-Lennard, E. G. 2002. Restoration of saline land through revegetation. *Agric. Water Manag.* 53(1-3): 213-226.
10. Basavaraja, P. K.; Sharma, S. D.; Badrinath, M. S.; Sridhara, S.; Hareesh, G. R. 2007. *Prosopis juliflora* - An efficient tree species for reclamation of salt affected soils. *Karnataka J. Agric. Sci.* 20(4): 727-731.
11. Bosworth Phalen, K. 2009. An invitation for public participation in ecological restoration: The reasonable person model. *Ecol. Restor.* 27(2): 178-186.
12. Bradshaw, A. D. 1996. Underlying principles of restoration. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53(S1): 3-9.
13. Ceccon, E. 2013. Restauración en bosques tropicales: fundamentos ecológicos, prácticos y sociales. Ediciones Díaz de Santos, México. 288 p.
14. Chhabra, R.; Thakur, N. P. 1998. Lysimeter study on the use of biodrainage to control waterlogging and secondary salinization in (canal) irrigated arid/semi-arid environment. *Irrig. Drain. Syst.* 12(3): 265-288.
15. Cony, M. A. 1995. Reforestación racional de zonas áridas y semiáridas con árboles de múltiples propósitos. *Interciencia.* 20(5): 249-253.
16. Dubovyk, O.; Menz, G.; Conrad, C.; Kan, E.; Machwitz, M.; Khamzina, A. 2013. Spatio-temporal analyses of cropland degradation in the irrigated lowlands of Uzbekistan using remote-sensing and logistic regression modeling. *Environ. Monit. Assess.* 185(6): 4775-4790.
17. Eilers, R. G.; Eilers, W. D.; Fitzgerald, M. M. 1997. A salinity risk index for soils of the canadian prairies. *Hydrogeol. J.* 5(1): 68-79.
18. Giordano, R.; Liersch, S. 2012. A fuzzy GIS-based system to integrate local and technical knowledge in soil salinity monitoring. *Environ. Model. Softw.* 36: 49-63.
19. Hamidov, A.; Beltrao, J.; Neves, A.; Khaydarova, V.; Khamidov, M. 2007. *Apocynum lancifolium* and *Chenopodium album* - Potential species to remediate saline soils. *WSEAS Trans. Environ. Dev.* 3(7): 123-128.
20. Hasanuzzaman, M.; Nahar, K.; Alam, M. M.; Bhowmik, P. C.; Hossain, M. A.; Rahman, M. M.; Prasad, M. N. V.; Ozturk, M.; Fujita, M. 2014. Potential use of halophytes to remediate saline soils. *Biomed Res. Int.* : [online] URL: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/58934>.
21. Hbirkou, C.; Martius, C.; Khamzina, A.; Lamers, J. P. A.; Welp, G.; Amelung, W. 2011. Reducing topsoil salinity and raising carbon stocks through afforestation in Khorezm, Uzbekistan. *J. Arid Environ.* 75(2): 146-155.
22. Heuperman, A. 1999. Hydraulic gradient reversal by trees in shallow water table areas and repercussions for the sustainability of tree-growing systems. *Agric. Water Manag.* 39(2-3): 153-167.
23. Kassas, M. 1995. Desertification: a general review. *J. Arid Environ.* 30(2): 115-128.
24. Llop, A.; Alvarez, A. 2002. Guía sobre salinización del agua subterránea en el este mendocino. 50 p. Disponible en: <http://www.ina.gov.ar/pdf/Cela-guia-salinizacion-agua.pdf>

25. Malins, D.; Metternicht, G. 2006. Assessing the spatial extent of dryland salinity through fuzzy modeling. *Ecol. Modell.* 193(3-4): 387-411.
26. Masoudi, M.; Patwardhan, A. M.; Gore, S. D. 2006. A new methodology for producing of risk maps of soil salinity. Case study: Payab Basin, Iran. *J. Appl. Sci. Environ. Manag.* 10(3): 9-13.
27. Nabti, E.; Sahnoune, M.; Ghoul, M.; Fischer, D.; Hofmann, A.; Rothballer, M.; Schmid, M.; Hartmann, A. 2010. Restoration of growth of durum wheat (*Triticum durum* var. waha) under saline conditions due to inoculation with the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* NH and extracts of the marine alga *Ulva lactuca*. *J. Plant Growth Regul.* 29(1): 6-22.
28. Nosetto, M. D.; Acosta, A. M.; Jayawickreme, D. H.; Ballesteros, S. I.; Jackson, R. B.; Jobbágy, E. G. 2013. Land-use and topography shape soil and groundwater salinity in central Argentina. *Agric. Water Manag.* 129: 120-129.
29. Noy-Meir, I. 1973. Desert ecosystems: Environment and producers. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 4: 25-51.
30. ONDTyD 2014. Índice de aridez. Disponible en: [www.desertificacion.gov.ar/wp-content/uploads/2013/04/ia\\_climatico\\_arg1.jpg](http://www.desertificacion.gov.ar/wp-content/uploads/2013/04/ia_climatico_arg1.jpg)
31. Rabhi, M.; Hafsi, C.; Lakhdar, A.; Hajji, S.; Barhoumi, Z.; Hamrouni, M. H.; Abdelly, C.; Smaoui, A. 2009. Evaluation of the capacity of three halophytes to desalinate their rhizosphere as grown on saline soils under nonleaching conditions. *Afr. J. Ecol.* 47(4): 463-468.
32. Ram, J.; Garg, V. K.; Toky, O. P.; Minhas, P. S.; Tomar, O. S.; Dagar, J. C.; Kamra, S. K. 2007. Biodrainage potential of *Eucalyptus tereticornis* for reclamation of shallow water table areas in north-west India. *Agrofor. Syst.* 69(2): 147-165.
33. Rengasamy, P. 2006. World salinization with emphasis on Australia. *J. Exp. Bot.* 57(5): 1017-1023.
34. SER 2004. The SER International Primer on ecological restoration. Disponible en: <http://www.ser.org/docs/default-document-library/english.pdf>
35. Taleisnik, E.; López, Launestein, D. 2011. Leñosas perennes para ambientes afectados por salinidad. Una sinopsis de la contribución argentina a este tema. *Ecol. Austral.* 21(1): 3-14.
36. Thomas, D. S. G.; Middleton, N. J. 1993. Salinization: new perspectives on a major desertification issue. *J. Arid Environ.* 24(1): 95-105.
37. Torres, E.; Montaña, E.; Torres, L.; Abraham, E. M. 2005. Problemas del uso del agua en tierras secas: oasis y desierto en el norte de Mendoza, Argentina. En: Fernández Cirelli A, Abraham EM, editors. Cooperación Iberoamericana CYTED Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo, Mendoza. 11-24.
38. UN 2015. United Nations. Transforming our world: the 2030 agenda for sustainable development. Disponible en: [http://www.un.org/pga/wp-content/uploads/sites/3/2015/08/120815\\_outcome-document-of-Summit-for-adoption-of-the-post-2015-development-agenda.pdf](http://www.un.org/pga/wp-content/uploads/sites/3/2015/08/120815_outcome-document-of-Summit-for-adoption-of-the-post-2015-development-agenda.pdf)
39. UNCCD 1994. Convention to combat desertification in those countries experiencing serious drought and/or desertification, particularly in Africa. Final text of the convention. 58 p. Disponible en: <http://www.unccd.int/Lists/SiteDocumentLibrary/conventionText/conv-eng.pdf>
40. UNCCD 2012. Desertification: a visual synthesis. 50 p. Disponible en: <http://www.unccd.int/Lists/SiteDocumentLibrary/Publications/Desertification-EN.pdf>
41. UNCCD 2012. Zero Net Land Degradation. A sustainable development goal for Rio+20. 28 p. Disponible en: [http://www.unccd.int/Lists/SiteDocumentLibrary/Rio+20/UNCCD\\_PolicyBrief\\_ZeroNetLandDegradation.pdf](http://www.unccd.int/Lists/SiteDocumentLibrary/Rio+20/UNCCD_PolicyBrief_ZeroNetLandDegradation.pdf)
42. Vilela, A.; Bolkovic, M. L.; Carmanchahi, P.; Cony, M.; Lamo D. de; Wassner, D. 2009. Past, present and potential uses of native flora and wildlife of the Monte Desert. *J. Arid Environ.* 73(2): 238-243.
43. Villagra, P. E.; Vilela, A.; Giordano, C.; Alvarez, J. A. 2010. Ecophysiology of *Prosopis* species from the arid lands of Argentina: what do we know about adaptation to stressful environments? In: Ramawat KG, editor. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. 321-340.
44. Zhang, T. T.; Zeng, S. L.; Gao, Y.; Ouyang, Z. T.; Li, B.; Fang, C. M.; Zhao, B. 2011. Assessing impact of land uses on land salinization in the Yellow River Delta, China using an integrated and spatial statistical model. *Land use policy.* 28(4): 857-866.

45. Zhang, Y. F.; Wang, P.; Yang, Y. F.; Bi, Q.; Tian, S. Y.; Shi, X. W. 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi improve reestablishment of *Leymus chinensis* in bare saline-alkaline soil: implication on vegetation restoration of extremely degraded land. *J. Arid Environ.* 75(9): 773-778.
46. Zhou, D.; Lin, Z.; Liu, L. 2012. Regional land salinization assessment and simulation through cellular automaton-Markov modeling and spatial pattern analysis. *Sci. Total Environ.* 439: 260-274.
47. Zhou, D.; Lin, Z.; Liu, L.; Zimmermann, D. 2013. Assessing secondary soil salinization risk based on the PSR sustainability framework. *J. Environ. Manage.* 128(15): 642-654.
48. Zuleta, G.; Rovere, A. E.; Pérez, D.; Campanello, P. I.; Guida Johnson, B.; Escartín, C.; Dalmaso, A.; Renison, D.; Ciano, N.; Aronson, J. 2015. Establishing the ecological restoration network in Argentina: from Rio1992 to SIACRE2015. *Restor. Ecol.* 23(2): 95-103.

## **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional de Cuyo**

### **Normas para la presentación de artículos**

La Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo publica trabajos inéditos, escritos en español o en inglés, cuya temática esté relacionada con la ingeniería agronómica, la bromatología y los recursos naturales renovables.

Dichos trabajos pueden ser artículos de investigación, notas científicas y revisiones.

Los primeros son el resultado de la investigación científica teórica, experimental o de campo y significan un aporte original al conocimiento; no deben superar las dieciséis páginas.

Las notas científicas, cuya extensión no debe superar las ocho páginas, son trabajos originales y cuyos resultados, aunque parciales, es importante difundir rápidamente. También entran en esta categoría la descripción de nuevas especies y cultivares, plagas, enfermedades y ajustes de metodologías.

Las revisiones serán elaboradas por especialistas destacados en las disciplinas que se abordan en la Revista. Las mismas serán solicitadas por el Comité Editorial y no deberán superar las veinte páginas.

Declaración de originalidad: los artículos deberán ser originales y no pueden ser presentados simultáneamente en otra revista para su publicación.

Los autores de los trabajos podrán pertenecer tanto a la institución editora como a otras facultades, centros de investigación u organismos en los cuales se lleven a cabo investigaciones vinculadas con las temáticas mencionadas precedentemente.

Cada trabajo será sometido a referato: los especialistas (al menos dos), de reconocida trayectoria tanto en el ámbito nacional como internacional, recibirán dicho trabajo y la correspondiente planilla de evaluación. Su función consistirá en revisar críticamente el material presentado y dictaminar respecto de su publicación. El autor puede sugerir algunos evaluadores, quienes podrían ser considerados por el Editor en el proceso de evaluación. El origen de los evaluadores es externo al Comité Editorial, de procedencia nacional e internacional y el sistema de evaluación es "doble ciego". La pertinencia del original es decidida por el Comité Editorial en tanto que su aceptación o rechazo depende del dictamen de los evaluadores o del incumplimiento de la exigencia de originalidad del trabajo. Asimismo, el Editor devolverá a los autores, sin pasar por el proceso de arbitraje, aquellos manuscritos que no se ajusten a las normas de presentación de la Revista.

Esta publicación es arancelada, para los autores extranjeros, cada página diagramada en blanco y negro, tiene un costo de 30 dólares, la página a color 50 dólares y la página extra 70 dólares. Para los autores nacionales, los valores son de 20, 40 y 60 dólares respectivamente. Se recomienda ajustarse al número de páginas establecido.

El material, acompañado de una nota solicitando su publicación, será remitido al Centro de Ediciones Académicas, Facultad de Ciencias Agrarias, UNCUYO, Alte. Brown 500. Chacras de Coria. Mendoza. Argentina. M5528AHB, de acuerdo con el modelo establecido para tal fin (consultar página Web: <http://revista.fca.uncu.edu.ar>).

Deberá enviarse una copia impresa en tamaño A4, a doble espacio, escrita en una sola carilla con tipografía Cambria 10 (los datos de: figuras, tablas y mapas deben escribirse con igual tipografía).

Las líneas deberán enumerarse en el margen izquierdo.

Las páginas estarán numeradas arriba y a la derecha. Asimismo, es imprescindible disponer del archivo electrónico del trabajo, elaborado en procesador de texto Word. Si mediaran razones de distancia geográfica significativa, podrá obviarse el envío postal y se aceptará el envío del artículo sólo a través de la siguiente cuenta de correo electrónico: ccea@fca.uncu.edu.ar.

Para conferir unidad a la publicación, el Centro de Ediciones solicitará, de ser necesario, modificaciones en el título, hará correcciones de estilo y llevará a cabo el diagramado. Concluida esta etapa, se le enviará al primer autor de cada trabajo el PDF para su revisión. Dicho proceso de revisión no deberá superar los siete días corridos. Una vez impresa la Revista, al primer autor de cada artículo se le entregará diez separatas.

Los trabajos, redactados con lenguaje claro, preciso, deberán exponer con rigor científico los contenidos y no podrán apartarse de las indicaciones que a continuación se consignan:

**Título:** En español y en inglés, con una extensión no superior a las veinte palabras. Asimismo, se requiere el título abreviado que resulta necesario para el diagramado.

**Autores:** Nombres y apellidos completos, pertenencia institucional, dirección postal y correo electrónico del primer autor.

**Resumen:** En español y en inglés (abstract), con una extensión máxima de doscientos vocablos. De modo conciso y breve se planteará el tema del trabajo, la metodología, los resultados y las conclusiones. No deberán incluirse antecedentes del tema a tratar, ilustraciones ni citas bibliográficas.

**Palabras clave:** En español y en inglés (keywords): se recomienda consultar los tesauros específicos.

**Introducción:** Deberá ser concisa, incluirá una revisión sintética del conocimiento del tema a la fecha, con las citas específicas que respaldan ese conocimiento y establecerá los aspectos aún no resueltos. Explicitará los objetivos e hipótesis tendientes a favorecer la claridad conceptual del trabajo.

**Materiales y métodos:** Se expondrá el diseño experimental, la toma de muestras y su tratamiento estadístico de forma tal que permita la reproducción del ensayo a otros investigadores.

**Tablas:** El título, en español y en inglés, debe ubicarse arriba de las mismas. Cada una debe ser autoexplicativa, vale decir que no exigirá leer el artículo para entenderla. No debe repetirse la misma información en tablas y figuras. No incluir en la tabla ninguna información que no se discuta en el texto. Deberán presentarse en formato MS Word, no como imagen. Cada campo o dato deberá separarse con tabulaciones, nunca con la barra espaciadora. El ancho total no debe exceder los 15 cm. Si hubiera referencias al pie, éstas deberán estar en español y en inglés.

**Figuras:** El título, en español y en inglés, debe ubicarse debajo de las mismas. Si hubiera referencias al pie, deberán estar en español y en inglés. Deben ser autoexplicativas y se evitará la repetición de la información contenida en las tablas. Si la figura fue elaborada en Excel, Corel Draw, Statistica para Windows, etc., además de la versión en el procesador de textos, enviar el archivo original por separado. Otra posibilidad es enviar el archivo en formato Windows Metafile (wmf).

**Fotos:** Sólo deben incluirse si proveen información que favorezca la comprensión del artículo. Deben ser nítidas, con alto contraste. Deben ser enviadas como archivos electrónicos tif o jpg, con no menos de 300 ppp. Si se dispone de foto en papel, enviar con el original; al publicar el artículo serán devueltas al autor.

**Mapas:** Solo deben incluirse si proveen información esencial para entender el artículo.

En el diagramado, se procurará que tanto las figuras que requieran color, las fotos color o los mapas en color se ubiquen en una página. Cabe señalar que de este modo se tiende a disminuir el costo que deberán asumir los autores por cada página color (40 dólares por cada una).

**Resultados:** Deberán presentarse en forma clara y concisa, utilizando tablas y figuras y destacando los aspectos más relevantes del trabajo.

**Discusión:** Interpretación de los resultados, con especial énfasis en coincidencias o diferencias con el marco teórico. Es opcional la autonomía de esta sección ya que puede formar junto con Resultados una sola estructura conceptual.

**Conclusiones:** Deben ser sintéticas y reflejar hallazgos, soluciones y/o aplicaciones concretas. Deben responder a los objetivos e hipótesis del trabajo.

**Bibliografía:** Deberá constar en el listado bibliográfico toda referencia citada en el texto. Se adoptará un sistema alfa-numérico, con listado ordenado alfabéticamente por el primer autor. En virtud de ello, en el texto la cita aparecerá con el número que tiene en el listado bibliográfico; dicho número se escribirá en el texto entre paréntesis.

Cada cita bibliográfica deberá constar de los siguientes datos (consultar ejemplos en página Web: <http://revista.fca.uncu.edu.ar>):

- Número correspondiente a la cita.
- Apellido e iniciales de los autores.
- Año de edición de la publicación. Se indicarán las posteriores a la inicial; por ej.: 2001. 3<sup>ra</sup> ed.
- Título completo de la publicación, en el idioma original. Si fuera una revista, primero se consignará el título del artículo y a continuación el nombre de la Revista, el volumen y/o número y las páginas del artículo.
- Ciudad de edición (país en caso necesario).
- Editorial.
- Cabe señalar que cuando se trate de una comunicación personal, se citará en el texto la fuente (nombre de la persona y año) pero no se incluirá en el listado bibliográfico.
- Para citas tomadas de Internet: autor, año, título, URL (dirección: <http://www...>).
- Fecha de consulta.

**Agradecimientos:** Se hará una mención breve y concisa a cada persona o institución merecedora de dicho reconocimiento.

Los nombres científicos completos serán citados en su primera mención, luego podrá usarse solamente la inicial del género más la especie, sin agregar el clasificador. El nombre común deberá estar acompañado por el nombre científico en la primera mención. Las locuciones latinas deberán ir en itálica o cursiva (ej.: *et al.*, *in vitro*).

Se podrán utilizar símbolos químicos en el texto (Ej.: N por nitrógeno), pero no podrán emplearse las fórmulas químicas sino el nombre correspondiente (Ej.: agua y no H<sub>2</sub>O). Se podrán utilizar abreviaturas de uso habitual, como ATP, ADN, etc.

Cuando en el texto se mencionen cantidades, se expresarán en letra del cero al nueve, excepto cuando estén acompañados de unidades de medida o se incluya números más grandes (Ej.: 2, 7 y 25 muestras). En idioma español los decimales se indican con coma y con punto en inglés.

Se recomienda a los autores revisar la lista de control que figura en la página Web:  
<http://revista.fca.uncu.edu.ar>  
para verificar que se haya cumplido con todos los requisitos señalados.