

Descubren un virus de búfalos que contagia a vacas



EL TRABAJO DE LA CIENCIA
PARA PROTEGER LA SALUD

EDITAR EL GENOMA DE LA ALFALFA
PARA AUMENTAR SU RENDIMIENTO

ENTREVISTA A JESSICA PETRAKOVSKY
Y ALEJANDRA BIANCHI
"TRABAJAMOS PARA CONTAR
CON VACUNAS SEGURAS Y EFICACES"



ISSN 0325-8718
ISSN 1669-2314

Institución Editora:
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)

Cuatrimestral

Vol. 45 N.º 2
Agosto 2019, Buenos Aires, Argentina

Propiedad Intelectual
Propiedad Intelectual N.º 5231354

SEDE EDITORIAL

Chile 460 2.º piso
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
CP (C1098AAJ)
+54 (011) 4339-0600
<http://ria.inta.gov.ar>
revista.ria@inta.gov.ar

La Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA) es una publicación de información científica editada por el INTA. Los artículos presentados son admitidos por un Comité Editorial compuesto por prestigiosas figuras del ámbito académico y científico agropecuario. Abarca diferentes temas preparados por profesionales del INTA y de otras instituciones, y está destinada a la comunidad científica nacional e internacional.

Lo expresado por autores, corresponsales o columnistas no necesariamente reflejan el pensamiento del Comité Editorial, de la revista o de su institución editora.

Indexada en:
Scopus
Latindex (Folio 3346)
CABI Publishing
DOAJ (Directory of Open Access Journals)
Redalyc.org
Núcleo Básico
Thomson Reuters
Dialnet
Scielo
CiteFactor

MIEMBROS DEL CONSEJO DIRECTIVO DEL INTA

Presidente:

Ing. Agr. Juan Balbín

Vicepresidente:

Ing. Mariano Miguel Bosch

Consejeros Nacionales:

Med. Vet. Carlos Alberto Antonio Vera - MinAgro
Ing. Agr. Oscar Arellano - Facultades de Agronomía
Ing. Agr. Horacio Abel Alippe - AACREA
Ing. Agr. Elbio Néstor Laucirica - CONINAGRO
Sr. Alejandro Lahitte - CRA
Dr. Pablo Paillole - FAA
Sr. Carlos Vila Moret - SRA
Dr. Carlos A. Arzone - Facultad de Veterinaria

Director Nacional:

Ing. Agr. Héctor Espina

Directores Nacionales Asistentes:

DNA Sistemas de Información, Comunicación y Calidad
Lic. Juan Manuel Fernández Arocena

DNA de Relaciones Institucionales
Dra. Ana Cipolla

DNA Planificación, Seguimiento y Evaluación
Dra. Susana Mirassou

DNA Organización y RR.HH.
Dra. Hebe Julián

DNA Administración CPN
Lic. Rosendo Tarsetti

Coordinadores Nacionales:

CN de Transferencia y Extensión
Ing. Ftal. Diego Ramilo

CN de Investigación y Desarrollo
Dr. Fernando Fernández

CN de Vinculación Tecnológica
Ing. Adolfo Luis Cerioni

STAFF

Dirección:

Dra. Norma Pensel
Lic. Máximo Bontempo

Coordinación editorial:

Per. Giselle Miquet
Mg. Mario Migliorati

Asistente editorial:

Lic. Gustavo Ciuffo
Lic. Cecilie Esperbent

Producción Editorial:

Asesores técnicos y de contenido
Ing. Agr. Cristian Zuchini
Dr. Martín Irurueta
Dra. Mariana Insani

Diseño y Edición:

Comunicación Visual, Gerencia de Comunicación
e Imagen Institucional

Fotografía:

Audiovisual, Gerencia de Comunicación
e Imagen Institucional

COMITÉ EDITORIAL

Presidente:

Dr. Carlos Di Bella. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina

Vocales:

Ing. Agr. Jorge Mariotti. Universidad Nacional de Salta (UNSA). Argentina

Dra. Ana María Romero. Universidad de Buenos Aires (UBA). Argentina

Ing. Agr. M. Sc. María Eugenia Beget. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Argentina

Dr. Miguel Ángel Taboada. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina

Dr. Laureano S. Frizzo. Universidad Nacional del Litoral (UNL).

Dr. Frédéric Goulet. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD). Francia

Dr. Martín Durante. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Argentina

Dr. Ariel Pereda. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

Dr. Claudio Machado. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA). Argentina.

Dra. Rosanna Nora Pioli. Universidad Nacional de Rosario (UNR). Argentina.

COMITÉ ASESOR

Ing. Agr. M.Sc. Marina Di Filippo. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Argentina

Dr. Emiliano Quiroga. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Argentina

Dr. Darío Fernández. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Argentina

Ing. Agr. M.Sc. Alejandro Rago. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Argentina

Lic. María Isabel Tort. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Argentina

Dra. Karina Trono. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina

Ing. Agr. M. Sc. Damián Vega. Universidad de Buenos Aires (UBA). Argentina

Ing. Agr. Sergio E. Feingold. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Argentina

Esta publicación es propiedad del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Rivadavia 1439. CABA. Buenos Aires, Argentina.



Secretaría
de Agroindustria



Ministerio de Producción y Trabajo
Presidencia de la Nación

Una sola salud

La vacunación es el método más económico y más efectivo para la prevención de enfermedades infecciosas. Las vacunas activan el sistema inmunológico para generar memoria inmunológica, lo cual permite reaccionar rápida y eficientemente ante la exposición futura al patógeno, evitando la enfermedad, reduciendo los síntomas o disminuyendo la propagación de los agentes infecciosos hacia otros organismos o el ambiente. La vacunación posee también un rol social, porque los individuos vacunados conforman un escudo de protección que evita la propagación de los agentes infecciosos. Cuando la mayoría de los individuos de una comunidad están correctamente inmunizados y aunque un individuo se enferme, la enfermedad no podrá extenderse ni mantenerse porque la mayoría de los individuos de la población vacunada no son susceptibles. De esta forma la enfermedad estará limitada. Y aunque siempre existe un pequeño porcentaje de individuos que no pueden ser vacunados (por tener las defensas alteradas o su sistema inmunológico inmaduro), el riesgo de infección de estos será mayor cuanto menor sea el porcentaje de individuos vacunados a su alrededor.

El concepto “Una sola salud” resume la noción en la que la salud humana y la sanidad animal son interdependientes y están vinculadas a los ecosistemas donde coexisten. Las enfermedades de origen animal a las que el hombre es sensible, como la influenza aviar, la rabia, la tuberculosis o la brucelosis, representan riesgos mundiales para la salud pública. Otras enfermedades de transmisión esencialmente de persona a persona, que circulan en animales o tienen un reservorio animal identificado, pueden causar graves crisis sanitarias (epidemia causada por el virus del Ébola). Estos riesgos se acentúan con la mundialización y los cambios climáticos y de comportamiento humano, lo que multiplica las oportunidades para que los patógenos colonicen nuevos territorios y evolucionen bajo nuevas formas.

El control de los patógenos zoonóticos -transmisibles del animal al hombre y viceversa- en su origen animal es la solución más eficaz y más económica para proteger al hombre. La prevención y control de patógenos debe estar coordinada en la interfaz animal-hombre-ecosistema y ser aplicable a nivel mundial, regional y nacional mediante la implementación de políticas adecuadas.

Entre otros temas, el INTA contribuye al control de enfermedades infecciosas mediante abordajes de diagnóstico, epidemiología y desarrollo de vacunas. El propósito es identificar los patógenos, conocer sus características, determinar su circulación a campo y buscar estrategias para su control. Cuando hablamos de desarrollo de vacunas en el INTA, lo primero que recordamos es la vacuna antiaftosa oleosa polivalente desarrollada por el Dr. Scholein Rivenson. Esta vacuna, a virus inactivado, aún se usa y es un producto exitoso para el control de la enfermedad. Por su parte, las vacunas convencionales para la prevención del complejo tristeza bovina, basadas en inmunógenos vivos atenuados, fueron desarrolladas

en las Estaciones Experimentales Agropecuarias Rafaela -Santa Fe- y Mercedes -Corrientes- del INTA. Contra esta enfermedad, en nuestro país y en el extranjero, se comercializa la vacuna BioJaJa, resultado de un convenio de transferencia tecnológica entre INTA Rafaela y la empresa Litoral Biológicos.

Además de vacunas convencionales -atenuadas o inactivadas-, en el INTA se implementan tecnologías para el desarrollo de vacunas obtenidas por técnicas de ingeniería genética -vacunas de nueva generación-. Este tipo de vacunas utiliza algún componente del agente infeccioso y evita la manipulación de patógenos que causan enfermedad durante su producción.

Una de las fortalezas del INTA es abordar los proyectos de investigación desde la ciencia básica y, además, disponer de los mecanismos de vinculación tecnológica que permiten llegar con productos al mercado. En todo este recorrido, los distintos grupos de investigación y desarrollo se van articulando y encadenando con el propósito de sumar capacidades para alcanzar el objetivo: obtener una vacuna segura y eficaz. A través de la vinculación, en este recorrido y en diferentes etapas del desarrollo tecnológico, se suman actores del sector público y privado.

En el área del desarrollo de vacunas el camino no es recto. Pero gracias a que en el INTA se implementan plataformas tecnológicas y se dispone de recursos humanos altamente capacitados, es posible abordar los proyectos con diferentes estrategias y/o redefinirlas de acuerdo con los resultados de las investigaciones.

Las dos vacunas biotecnológicas desarrolladas en nuestro país que alcanzaron el mercado local se obtuvieron utilizando plataformas tecnológicas implementadas en el INTA, articulando por distintos caminos con empresas nacionales productoras de vacunas veterinarias. R-VAC INMUNER IBD, vacuna vectorizada para la prevención de la enfermedad de Gumboro en pollos, es el producto de una colaboración entre el INTA y Laboratorios Inmuner (PyME). El desarrollo de Vedevax Block, vacuna para la prevención de la diarrea viral bovina, se inició en el INTA -a través del Instituto de Virología e InculINTA- y luego fue transferido a Bioinnovo (primera Empresa público-privada de Base Tecnológica formada por InculINTA, la plataforma INTA para proyectos tecnológicos, y el laboratorio veterinario Vetanco) para llegar al mercado a través de Bioinnovo y Vetanco.

Actualmente en el INTA hay proyectos de investigación en ejecución con diferente grado de avance para el desarrollo de vacunas convencionales y biotecnológicas. En estos proyectos, participan también organismos del sector público -científico, académico y gubernamental- y empresas nacionales del sector veterinario.

Hay mucho camino recorrido, falta mucho por recorrer. Desde el INTA contribuimos al control, prevención y erradicación de enfermedades infecciosas mediante desarrollos científico-tecnológicos con el concepto de “Una sola salud”.

Actualidad en I+D

Editorial

138

Una sola salud

El aporte científico-técnico del INTA en el control, prevención y erradicación de enfermedades infecciosas.

Notas

140

Descubren un virus de búfalos que contagia a vacas

Tras reportar el primer aislamiento en Sudamérica, científicos demuestran la susceptibilidad de los bovinos.

146

El trabajo de la ciencia para proteger la salud

Investigadores del INTA presentan vacunas de nueva generación que fortalecen la producción agropecuaria.

151

Editar el genoma de la alfalfa para aumentar su rendimiento

La mejora de caracteres agronómicos de interés resulta un aporte clave para el alimento de la ganadería.

154

"Trabajamos para contar con vacunas seguras y eficaces"

Jessica Petrakovsky y Alejandra Bianchi destacan el rol del Laboratorio Animal del SENASA en el país.

Trabajos

Revisión

159

Mejoramiento genético del perfil de ácidos grasos del aceite de maíz

Delucchi, C.; Percibaldi, M.; Trejo, M.; Eyhérbide, G.

Artículos

182

Caracterización de la resistencia al pulgón verde de los cereales (*Schizaphis graminum*) en cultivares de cebada bajo condiciones controladas

Tocho, É.; Tacaliti, M.S.; Musa, A.; González, G.A.; Moreyra, F.; Giménez, F.

191

Actividad forrajera de *Acromyrmex striatus* (Roger, 1863) (Formicidae: Attini) en un viñedo orgánico en Mendoza, Argentina

Dagatti, C.V.; Bernabé, A.L.; Rossi, L.; Becerra, V.C.

196

Tendencias y equitatividad de los principales cultivos extensivos en el centro de la provincia de Buenos Aires

Bocchio, V.; Requesens, E.; Mestelan, S.

204

Evaluación sensorial del topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) como alimento

Ibarguren, L.; Calderon, M.; Tessaro, S.; Bertona, A.; Reborá, C.

211

Reduction of liver abscesses in feedlot cattle by the addition of tannins on diet

Cabral, C.; Redondo, E.A.; Delgado, F.

216

Efecto de la aclimatación a la intensidad lumínica en vivero sobre el desempeño postrasplante de plantines de *Austrocedrus chilensis*

Letourneau, F.J.; Namiot, G.; Perdomo, M.H.; Basil, J.G.

225

Efecto de diferentes tipos de cosecha sobre la calidad tecnológica de la fibra de algodón en cultivos de alta densidad

Tarragó, J.R.; Colli, S.L.; Nadal, N.J.; Gimenez, L.

234

Aplicación de compost de cama profunda porcina: calidad de suelo y producción de soja (*Glycine max* L.)

Pegoraro, V.R.; Boccolini, M.F.; Baigorria, T.; Rizzo, P.; Lorenzon, C.; Cazorla, C.R.

242

Conservación ex situ de variedades de papas nativas. Caso de estudio de la variedad 'Collareja' del noroeste de la Argentina

Atencio, H.M.; Ispizúa, N.V.; Feingold, S.; Clausen, A.M.

252

Evaluación de la intersemebra de rúcula (*Eruca sativa* Mill.) y lechuga (*Lactuca sativa* L.) en Colonia Benítez, Chaco

Shindoi, M.M.J.F.; Avico, E.L.; Sarco, P.C.; Monteros Solito, D.E.

259

Metodología para el registro, seguimiento y monitoreo de la entrega de semilla y realización de huertas en San Pedro, provincia de Buenos Aires (Argentina)

Piola, M.; Hansen, L.; Liljestrom, V.; Marcozzi, P.

279

Estimación de la función de daño potencial y nivel de daño económico de *Caliroa cerasi* L. (Hymenoptera: tenthredinidae) en el Valle Inferior del Río Chubut (región Patagonia sur, Argentina)

Bado, S. G.

285

Insecticidas con posibilidad de registro en cereza en Argentina y sus implicancias para la exportación de frutas frescas

Cichon, L.; Araque, L.; Garrido, S.; Lago, J.; Cuello, N.

292

Hongos endófitos en festuca alta: del problema a las soluciones

Petigrosso, L.R.; Gundel, P.; Colabelli, M.N.; Fernandez, O.N.; Assuero, S.G.

Variedades

304

Colección de genotipos de batata de sanidad controlada del Instituto de Patología Vegetal

Vilanova Perez, A.; Suasnabar R.R.; Di feo, L.



PRODUCCIONES MIXTAS

Descubren un virus de búfalos que contagia a vacas

Estudios realizados desde el Instituto de Virología del INTA reportaron el primer aislamiento de herpesvirus bubalino 1 (BuHV1) de la Argentina y Sudamérica. A su vez, se demostró la susceptibilidad de bovinos a la infección por BuHV1. Recomiendan la vacunación de los rodeos y la aplicación de protocolos para mejorar el bienestar animal.

POR DANIELA NOVELLI

En la Argentina, los profundos cambios en el uso de la tierra —principalmente por la adopción de tecnologías que permitieron la expansión de la superficie sembrada— provocaron un desplazamiento e intensificación de carga ganadera hacia campos de menor calidad agrícola y la aparición de sistemas de producción mixtos, entre los que se destaca la producción combinada de bovinos y búfalos.

Los primeros búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) llegaron al país a principios del siglo XX, procedentes de Rumania y con

destino a la provincia de Entre Ríos, donde se intentó cruzarlos con bovinos para la producción de leche. Al fracasar esta experiencia, debido a que los búfalos y los bovinos tienen distinto número de cromosomas, los búfalos prácticamente desaparecieron, a excepción de algunos que fueron librados a la caza mayor.

Recién a comienzos de la década de 1980, se reanudaron las importaciones de animales principalmente desde Italia, Brasil y Paraguay hacia la Argentina. Actualmente, la producción de búfalos de

agua resulta una alternativa económica importante con alrededor de 132.000 cabezas según se desprende de los registros del SENASA a fines de 2018.

Por sus condiciones agroecológicas y productivas, la Mesopotamia argentina tiene un gran potencial para la cría de búfalos, un animal de triple propósito (carne, leche y trabajo), que representa una oportunidad para diversificar pequeñas y medianas explotaciones agropecuarias, sobre todo en ambientes marginales.



Aunados por el interés en la sanidad animal, especialistas del INTA y del CO-NICET pusieron el foco en las producciones mixtas de bovinos y búfalos y comenzaron a explorar los agentes virales que circulan entre individuos de distintas especies que conviven en un mismo ambiente. Analizaron tanto los agentes virales que son propios de la especie, como aquellos que logran superar la barrera interespecie.

Debido al alto nivel de prevalencia serológica y a las pérdidas económicas que ocasiona en los rodeos de carne y leche, los trabajos de investigación se dedicaron a conocer la circulación e impacto productivo de diferentes tipos de herpesvirus. Entre los hallazgos de mayor relevancia, los estudios permitieron reportar el primer aislamiento de herpesvirus bubalino 1 (BuHV1) en la Argentina y a escala sudamericana y demostrar la susceptibilidad de bovinos a la infección causada por BuHV1.

Alejandra Romera, investigadora del Instituto de Virología del INTA y del CO-NICET –desde 2018 articulados bajo la Unidad Ejecutora de Doble Dependencia denominada Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT)– destacó la importancia estratégica de estos estudios y explicó: “Los animales que cohabitan en un mismo ambiente pueden transmitirse enfermedades hasta transformarse en reservorios de virus endémicos, con el consecuente cambio en la

epidemiología de las distintas enfermedades dentro de la población de origen y un profundo impacto en las poblaciones con las que cohabitan”.

El aislamiento de BuHV1 fue reportado en 2014 por Silvina Maidana –también investigadora del IVIT–, quien, dos años más tarde, avanzó en la caracterización del desarrollo de la infección provocada por este virus en el hospedador natural mediante reproducción experimental.

Además de la descripción de la patogenia –un aporte de conocimiento constituido en el marco de su tesis doctoral dirigida por Romera–, se realizaron ensayos que probaron la susceptibilidad de bovinos a la infección por BuHV1, ya sea por transmisión desde búfalos infectados como por infección experimental.

Demostrada la susceptibilidad de bovinos a herpesvirus bubalino, las investigadoras actualmente estudian la susceptibilidad de los búfalos a los herpesvirus bovinos (BoHV1 y BoHV5). “De esta manera, se aporta en el estudio del rol del búfalo en la patogenia de herpesvirus bovinos y permite la evaluación de impacto a campo, especialmente en sistemas de producción mixta búfalo-bovino”, valoró Maidana.

En esta línea, Romera advirtió que, de probarse la susceptibilidad de los búfalos de agua a los patógenos que afectan al rodeo bovino y su rol como reservorio o huésped, “aumenta la necesidad de

realizar controles sanitarios del ganado bubalino, tanto para mejorar las condiciones de bienestar como los resultados productivos de la actividad ganadera”.

Respecto de las formulaciones que podrían utilizarse para inducir la inmunización de los animales, la investigadora precisó: “Si bien los búfalos de agua pertenecen a una especie diferente a los bovinos, debería ser estudiada la posibilidad de emplear las mismas vacunas utilizadas para bovino en búfalos en pos de desarrollar un calendario sanitario”.

Herpesvirus bovinos en territorio

Los herpesvirus bovinos de mayor impacto a nivel productivo son los alfa-herpesvirus bovinos tipo 1 y 5 (BoHV1 y BoHV5). Recientemente se identificó otro tipo en el país, el gammaherpesvirus bovino tipo 4 (BoHV4), cuyo impacto eco-

En la Argentina, los cambios en el uso de la tierra provocaron un desplazamiento de la ganadería hacia zonas de menor calidad agrícola y la aparición de producciones mixtas.

La Mesopotamia argentina tiene un gran potencial para la cría de búfalos, un animal de triple propósito: carne, leche y trabajo.

Recombinación genética por naturaleza

La Argentina es uno de los pocos países donde circula el herpesvirus bovino 5 (BoHV5) estrechamente relacionado con herpesvirus bovino 1 (BoHV1), pero causante de la encefalitis bovina. A lo largo de la historia, el BoHV5 fue clasificado en tres subtipos a, b y c, con la consideración de que el subtipo b sólo fue reportado dos veces y ambas en la Argentina.

Sin embargo, en 2017, un estudio del INTA y del CONICET reveló que este subtipo es una cepa producto de una recombinación natural entre los dos herpesvirus bovinos que co-circulan en el país (BoHV1 y BoHV5).

“Los herpesvirus son virus de ADN caracterizados por una baja tasa de sustitución de nucleótidos, por lo cual otros mecanismos moleculares podrían estar involucrados en su evolución; así, la recombinación podría estar jugando un rol importante como fuerza evolutiva esencial para generar diversidad en estos virus”, explicó Maidana.

Para la investigadora del Instituto de Virología del INTA y del CONICET, este hallazgo demuestra el riesgo de que aparezcan “recombinantes naturales a campo con patogenicidad desconocida y posible escape vacunal”. “Este riesgo no sólo impacta en la posibilidad de recombinación entre los herpesvirus dentro de la misma especie, sino en la posibilidad de que ocurran saltos interespecies de diferentes alfa herpesvirus de rumiantes”, apuntó Maidana.

nómico como causante primario de enfermedad aún se desconoce, pero que podría asociarse a trastornos reproductivos.

El BoHV1 –que se reportó por primera vez en Alemania en el siglo XIX– se encuentra distribuido en todo el mundo, aunque muchos países –principalmente europeos– pudieron erradicarlo o se encuentran en proceso de lograrlo. Por su parte, el BoHV5 –cuya primera aparición se ubica en Australia en 1962– es altamente prevalente en América del Sur, sobre todo en la Argentina y Brasil, y se registraron algunos casos esporádicos en América del Norte.

En la Argentina, reportes indican la ocurrencia de una enfermedad respiratoria causada por herpesvirus bovino en Santa Fe en 1965 y mencionan haber observado un cuadro clínico similar en Las Flores –Buenos Aires– en 1959. En 1980, se logra el aislamiento de la cepa argentina L114 de BoHV1 y se demuestra su patogenicidad en el mismo año.

A escala mundial, los primeros casos registrados fueron de origen venéreo y se difundieron en la población bovina por vía genital, principalmente. Con el advenimiento de los feeltots (engorde en confinamiento), la transmisión por vía respiratoria se incrementó al punto de que, en la actualidad, se observan ambos tipos de cuadros clínicos y una circulación simultánea de los tres subtipos del virus, el BoHV1.1 (característico de cuadros respiratorios) y el BoHV1.2 a y b (característicos de cuadros genitales).



“Los animales que cohabitan en un mismo ambiente pueden transmitirse enfermedades hasta transformarse en reservorios de virus endémicos”.
(A. Romera)

En territorio nacional, la presencia de cuadros clínicos asociados con estos virus disminuyó en los últimos años, particularmente en respuesta a la vacunación. “No obstante, los alfa herpesvirus continúan en circulación en nuestro país; muchas veces ocasionan infecciones subclínicas y otras, cuadros de inmunosupresión que predisponen a otros tipos de infecciones secundarias”, explicó Sandra Pérez, especialista del Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (Universidad Nacional del Centro) e investigadora del CONICET.

La posible incubación de enfermedades secundarias dificulta la estimación de pérdidas económicas exclusivas por herpesvirus bovinos. Respecto a lo productivo, Pérez indicó: “Aunque las pérdidas por mortandad no son elevadas en los rodeos, excepto en los casos neurológicos causados por BoHV5, suelen observarse disminuciones en la ganancia de peso y en la producción de leche”.

En la Argentina, las últimas estimaciones (2001) determinan que la prevalencia serológica de BoHV1 alcanzaría un 85 % en animales adultos, pese a que los datos varían de acuerdo con la región. No se conocen datos precisos sobre la prevalencia de BoHV5, debido a las dificultades que se presentan para diferenciarlo serológicamente de BoHV1.

En cuanto a BoHV4, no se han desarrollado métodos serológicos que permitan evaluar un número importante de muestras para determinar la prevalencia

del virus y el impacto económico de esta infección viral. “Esto también se ve dificultado por la escasa respuesta humoral a la infección”, apuntó la investigadora.

En el noreste argentino, donde se concentran la población de búfalos criados en forma intensiva, la seroprevalencia del herpesvirus bubalino se estima en un 33 %.

Respecto de las pérdidas económicas causadas por alfa herpesvirus bovinos, Maia Marin –investigadora del CONICET con asiento en la Estación Experimental del INTA en Balcarce– aseguró que son elevadas y, pese a no existen datos precisos de los costos vinculados con estas infecciones, varían de acuerdo con el alcance de los cuadros clínicos.

“Las pérdidas económicas se deben fundamentalmente a la disminución en la producción de carne y/o leche; pueden agravarse cuando existe mortandad, enfermedad respiratoria, abortos y enfermedad genital, diversos cuadros clínicos producidos por BoHV1, así como cuando se registran cuadros neurológicos asociados con BoHV5”, puntualizó Marin. El BoHV1 también se relaciona con infecciones subclínicas, aunque se reportaron casos de abortos.

Herramientas de inmunización

De acuerdo con Marin, existen restricciones para el comercio internacional en aquellos países que no lograron erradicar la infección. En el caso de la rinotraqueí-

tis infecciosa bovina y de la vulvovaginitis pustular infecciosa ocasionadas por BoHV1, su denuncia es obligatoria ante la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, según su sigla en inglés).

En este sentido, advirtió que animales asintomáticos –e incluso serológicamente negativos– pueden excretar el virus en semen. “Esto implica que la transmisión viral mediante semen congelado para su uso en inseminación artificial también constituye un riesgo potencial para el comercio internacional de semen”, aclaró Marin.

Para Romera, “una seria desventaja es la falta de un programa consensuado a escala internacional para el control de la infección, y esto difiere en la implementación de planes de control entre países”. Europa comenzó un riguroso plan de erradicación de BoHV1, una acción que abre la posibilidad de los países del viejo continente a incorporar requisitos y barreras pararancelarias para la importación de animales desde zonas infectadas.

En países con una alta prevalencia de BoHV1 como la Argentina, “la vacunación se plantea como una importante estrategia de control contra la excreción viral”, aseguró Romera.



Mediante un convenio con Biogénesis Bagó y un crédito del BID otorgado por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva de la Nación, técnicos del Instituto de Virología del INTA obtuvieron la primera vacuna marcadora del país contra el BoHV1 deletada en el gen gE (BoHV1 Δ gE β gal), que permite sepa-

Los procesos de inmunodepresión estrechamente vinculados a situaciones de estrés favorecen la reactivación de los virus en estado latente.



Herpesvirus en detalle

Transmisión. El virus penetra al organismo por vía aerógena, pero puede transmitirse en forma venérea, tanto por servicio natural como por inseminación artificial con semen infectado. Se manifiesta a partir de diferentes signos clínicos.

Tipo de herpesvirus bovinos	Caracterización molecular (subtipo)	Cuadro clínico que provoca	Circulación en territorio	
Herpesvirus bovinos tipo 1 (BoHV1)	1.1	Mayoritariamente aislado de cuadros respiratorios. Enfermedad respiratoria: rinitis infecciosa bovina (IBR, según sigla en inglés).	Distribuido en todo el mundo	 <p>Inmunización. Las vacunas brindan inmunidad contra BoHV-1</p>
	1.2a	Mayoritariamente aislado de abortos. Inducción de abortos.		
	1.2b	Mayoritariamente aislado de cuadros del tracto genital. Provoca enfermedad vulvovaginitis pustular infecciosa (IPV) o balanopostitis pustular infecciosa (IBP).		
Herpesvirus bovinos tipo 4 (BoHV4)		Asociado con infecciones del tracto reproductivo (no comprobado aún).		
Herpesvirus bovinos tipo 5 (BoHV5)	A	Mayoritariamente aislado del sistema nervioso. Enfermedad del sistema nervioso: encefalitis.	Distribuido en todo el mundo	 <p>Hallazgo. En 2017, un estudio del INTA y del CONICET reveló que el subtipo B es una cepa producto de una recombinación natural entre los tipos BoHV1 y BoHV5.</p>
	B		Sólo detectado en la Argentina	
	C		Brasil	

rar los animales infectados y portadores del virus (infectados en forma latente) de los animales sanos en un rodeo.

Esta capacidad de diferenciación vuelve a la herramienta una tecnología fundamental para la ejecución de programas sanitarios. “Un programa de control y limpieza únicamente puede llevarse a cabo si la vacunación se realiza con vacunas marcadoras, porque, en caso contrario, los controles serológicos no aportan información acerca de la diseminación del virus ni de la recirculación, por lo que se limita la monitorización”, argumentó Romera.

En el proceso de eliminación de la proteína gE, el virus también quedó atenuado en su virulencia, una característi-

ca ventajosa para su posible uso como vacuna atenuada en otros países de Europa y en Estados Unidos. La legislación argentina prohíbe el uso de vacunas con virus atenuados en bovinos, debido al riesgo de que ese virus se recombinen con otro.

“La vacuna fue probada de manera experimental en bovinos y resultó marcadora y con capacidad de protección de los animales”, describió Romera, quien destacó: “En establecimientos de alto valor agregado, la nueva herramienta servirá para que los productores puedan garantizar que sus animales son libres de herpesvirus”.

El desarrollo obtuvo la patente de invención por parte del Instituto Nacional

de la Propiedad Industrial (INPI), que pertenece al INTA. La empresa posee la licencia de comercialización.

Otra de las herramientas de inmunización que se destaca es la vacuna génica contra BoHV1 formulada con tecnología de última generación por el INTA. Este tipo de vacunas puede inducir respuestas inmunes similares a las inducidas por el virus, sin necesidad de producir una infección viral, y facilita la producción a gran escala con un alto grado de pureza y estabilidad y una buena relación costo-beneficio.

“Las vacunas a ADN contra BoHV1 fueron desarrolladas por primera vez cuando, a partir del uso de un plásmido codificante para la gD, se demostró que



se lograba desarrollar una respuesta inmune en bovinos”, detalló Patricia Zamorano, investigadora del Instituto de Virología del INTA y del CONICET.

Después de la infección experimental de los animales vacunados –bovinos de raza Aberdeen Angus y Criollo–, los especialistas observaron que en los inmunizados los síntomas fueron más leves y la excreción de virus fue menor respecto de los individuos sin vacunar. No obstante, la respuesta inmunitaria no alcanzó los criterios de protección establecidos por la OIE.

En esta línea, Zamorano explicó: “La cantidad de ADN que se requiere para la formulación y las repetidas inmunizaciones mostraron la necesidad de incrementar la respuesta producida por este tipo de vacunas y, por esta razón, actualmente trabajamos en la mejora de la vacuna a partir del desarrollo de distintas estrategias como la inclusión de adyuvantes”.

Los resultados de este trabajo fueron publicados por la revista científica *Frontiers In Immunology*.

Bienestar animal

Los animales que contraen herpes desarrollan el ciclo de la infección. Luego de un tiempo, los signos desaparecen y el virus ingresa en una fase de latencia, en la que el genoma viral permanece

dentro de las células del huésped durante toda la vida del individuo.

Por esta razón, los especialistas recomiendan adoptar prácticas de manejo que procuren el bienestar de los animales con el objetivo de evitar una disminución de su capacidad de respuesta inmune. Los procesos de inmunodepresión estrechamente vinculados a situaciones de estrés favorecen la reactivación de los virus en estado latente y, por ende, la emergencia de nuevos ciclos de infección y la aparición de infecciones bacterianas secundarias.

De acuerdo con Romera, “la aplicación de protocolos que reduzcan el estrés en los sistemas de producción, sumado a un racional y eficiente control sanitario, tendrá un impacto positivo en los animales en primera instancia y en los ingresos de los productores, al tiempo que evita que se afecte el costo animal, la calidad del producto y la satisfacción del consumidor”.

Desde 2007, las búfalas lecheras están incluidas en la lista del proyecto europeo *Welfare Quality*, a través del cual se avanzó en el diseño e implementación de protocolos para estimar el grado de estrés/bienestar. La evaluación consiste en 12 criterios; algunos relacionados con el ambiente y los recursos disponibles para el animal, otros basados en el manejo y recientemente se incluyeron indicadores orientados a la conducta, la salud y aspectos fisiológicos.

Existen restricciones para el comercio internacional para aquellos países que no lograron erradicar la infección por herpesvirus.

En este sentido, la investigadora destacó el desarrollo de esquemas de monitoreo del bienestar para proteger búfalos de los efectos de la intensificación por engorde a corral. “Su aplicación puede ayudar a mejorar tanto la percepción del consumidor por mejoras en la cadena de producción como a nivel de condiciones de prácticas y alojamiento”, añadió.

Desde el ámbito de la investigación, indicó: “Es necesario seguir generando evidencia científica que minimice el costo biológico de la adaptación a los distintos manejos y sistemas productivos para preservar el bienestar de los animales en primera instancia, en virtud de aportar a la transformación de producto y de otorgar una mayor oportunidad para su comercialización”.

Más información: Alejandra Romera romera.alejandra@inta.gob.ar; Silvana Maidana maidana.silvana@inta.gob.ar; Sandra Pérez seperez@vet.unicen.edu.ar; Maia Marín marinmaia@yahoo.com.ar; Patricia Zamorano zamorano.patricia@inta.gob.ar

DETRÁS DE LAS VACUNAS

El trabajo de la ciencia para proteger la salud

Consideradas como uno de los mayores logros de la biomedicina, las vacunas ayudan a disminuir, e incluso a erradicar, la incidencia de infecciones en humanos y en animales. Especialistas del INTA presentan las formulaciones de nueva generación diseñadas para fortalecer la producción agropecuaria. Además, analizan cómo evolucionaron y cuáles serán las del futuro.

POR CECILIE ESPERBENT

Formado por una compleja red de células y órganos encargados de proteger al cuerpo de las infecciones, el sistema inmunológico es la principal barrera de defensa del organismo. Cuando un microorganismo –bacteria, parásito o virus– patógeno entra al organismo, este escudo natural lo reconoce como extraño y activa la defensa, integrada por anticuerpos y células del sistema inmune. Así, se inicia una batalla que busca proteger al cuerpo de la enfermedad.

Si el sistema de defensa controla la infección, el individuo se recupera y tendrá memoria inmunológica frente a ese patógeno, en caso de un futuro encuentro con el mismo microorganismo.

El INTA trabaja en vacunas desarrolladas mediante biotecnología, las que no manipulan agentes patógenos y demuestran ser más eficaces para desencadenar inmunidad protectora.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define como vacuna a “cualquier preparación destinada a generar inmunidad contra una enfermedad, estimulando la producción de anticuerpos”. Esto le permite al sistema de defensa generar memoria inmunológica para responder de manera rápida y efectiva al control del patógeno. Es muy importante enten-

der que son preventivas y, para que sean eficaces, deben administrarse antes que el individuo se exponga de manera natural al microorganismo patógeno.

Ahora bien, ¿son todas las vacunas iguales y funcionan de la misma manera? De acuerdo con Gabriela Calamante, especialista del Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABiMo, IN-



TA-CONICET), existen tres tipos de formulaciones: convencionales inactivadas, atenuadas y a toxoides. “Si bien son diferentes, todas tienen un objetivo común que es disminuir o erradicar la incidencia de enfermedades infecciosas”, señaló.

Descubierta por Edward Jenner en 1796, la vacuna convencional se basa en el microorganismo (bacteria, virus o parásito) que causa la enfermedad, pero en un estado no patogénico. En su composición incluyen microorganismos inactivados –son seguras, pero se necesitan varias dosis para obtener una buena inmunidad, como la vacuna antirrábica– o atenuados –carecen de la posibilidad de producir la enfermedad, contienen variantes vivas del microorganismo; inducen una respuesta inmunitaria fuerte y duradera porque son muy similares a la infección natural que ayudan a prevenir; por ejemplo, varicela, triple viral o fiebre amarilla–.

Las vacunas a toxoides contienen una toxina o químico producido por el microorganismo, cuya toxicidad es atenuada o suprimida. Estas tienen la capacidad de inducir una respuesta inmune que previene los efectos dañinos de la infección, como la vacuna del tétanos.



Por otro lado, las vacunas de nueva generación o a subunidad son muy seguras porque solo utilizan algún componente del microorganismo y evitan la manipulación de patógenos que causan la enfermedad durante su producción, por ejemplo, en salud humana, la vacuna contra el virus del papiloma humano (HPV) y la hepatitis B.

En cuanto a sanidad animal, dentro de esta categoría están las vacunas veterinarias desarrolladas por el INTA para la prevención de la enfermedad de Gumboro (que afecta a los pollos) y de la diarrea viral bovina.

Diseñadas para proteger al organismo contra una enfermedad, en un futuro cercano las vacunas deberán no solo generar una respuesta inmunológica si-

“Una sola salud” remite a que tanto la salud humana como la sanidad animal son interdependientes y están vinculadas a los ecosistemas donde coexisten.

Trabajar para “Una sola salud”

En la actualidad, se sabe que algunas de las enfermedades que afectan a los animales de producción tienen un impacto significativo en la salud pública, debido a que se pueden transmitir a las personas en forma directa o a través del consumo de alimentos contaminados.

Desde el 2000, la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, por sus siglas en inglés) promueve el concepto “Una sola salud”. Se trata de una iniciativa en la que tanto la salud humana como la sanidad animal son interdependientes y están vinculadas a los ecosistemas donde coexisten.

De hecho, las enfermedades de origen animal a las que el hombre es sensible, como la influenza aviar, la rabia, la fiebre del Valle del Rift o la brucelosis, representan riesgos mundiales para la salud pública.

Otras afecciones de transmisión esencialmente de persona a persona circulan en animales o tienen un reservorio animal identificado y pueden causar una crisis sanitaria, como sucedió con la epidemia de la enfermedad causada por el virus del Ébola –cuyos huéspedes naturales son monos, gorilas y chimpancés–. Estos riesgos se acentúan con la mundialización y los cambios climáticos y de comportamiento humano, lo que multiplica las oportunidades para que los patógenos colonicen nuevos territorios y evolucionen bajo nuevas formas.

De acuerdo con un informe elaborado por la OIE, “el 60 % de los patógenos capaces de atacar al hombre y de causar zoonosis, es decir, enfermedades humanas de origen animal, provienen de los animales domésticos o salvajes. Combatir todos los patógenos zoonóticos controlándolos en la fuente animal es la solución más eficaz y más económica para proteger al hombre y requiere un enfoque político original que conduzca a inversiones específicas en materia de gobernanza, en particular, de la orientación de los recursos públicos y privados”, apunta el documento.

La iniciativa “Una sola salud” es una alianza formal entre la OMS, la OIE, y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO).

La Argentina avanza en el desarrollo de una nueva vacuna antirrábica

A pesar de ser una enfermedad totalmente prevenible según la OMS, la rabia causa decenas de miles de muertes cada año, principalmente en Asia y África. La vigilancia, la prevención y el control están centrados en el eslabón animal, debido a que el humano adquiere la enfermedad mediante el contacto –mordedura, lamido– con un individuo infectado.

“La rabia es una enfermedad infecto-contagiosa y es una de las principales zoonosis de distribución mundial”, acentuó Gabriela Calamante –especialista del INTA– y agregó: “Debido a que afecta a un amplio rango de animales domésticos y salvajes, es endémica en el norte de la Argentina y puede ser transmitida al hombre, nos sumamos a las iniciativas internacionales que buscan erradicarla”.

Por esto, Calamante junto con investigadores del IABiMo y del Servicio de Vacuna Antirrábica de la ANLIS-Malbrán avanzan en el desarrollo de una vacuna antirrábica de tercera generación, vectorizada por el virus canarypox. “Esto significa que buscamos una formulación más segura, eficaz y que evite la manipulación del virus rábico durante su producción”, señaló la investigadora del INTA.

En la actualidad, las vacunas antirrábicas más utilizadas están basadas en el virus rábico producido en cultivo celular e inactivado. Estas vacunas son efectivas y elegidas en el plan global que busca acabar con las muertes humanas causadas por la rabia transmitida por el perro, en el 2030 (“Cero para el 30” o “Zero by 30”, en inglés).

De acuerdo con Calamante, a futuro, “la disponibilidad de vacunas, que eviten la manipulación de grandes cantidades del virus de la rabia durante su producción, podría ayudar a disminuir los costos relacionados con la infraestructura de laboratorios con altos niveles de bioseguridad”.

Oscar Pérez, a cargo del servicio Vacuna Antirrábica de la ANLIS, remarcó la importancia de la asociación estratégica entre ambas instituciones públicas. “La interacción entre ambos grupos de trabajo viabiliza el cambio tecnológico en el área de vacunas”, indicó y agregó: “Este avance posicionaría a la ANLIS como productor público de biológicos de última generación”.

milar a la de la infección natural y otorgar inmunidad duradera luego de una única aplicación, sino que tendrán que tener estabilidad a temperatura ambiente, ser de fácil producción y económicamente accesible.

“Existe una tendencia hacia el reemplazo de las vacunas convencionales por aquellas desarrolladas mediante biotecnología, debido a que no manipulan agentes patógenos”, indicó Calamante, quien señaló que los inmunógenos de nueva generación demostraron ser eficaces para desencadenar inmunidad protectora expresando solo algunos antígenos del agente patógeno.

En todo el mundo se realizan investigaciones para identificar antígenos inductores de respuestas protectoras y para caracterizar la respuesta inmune más relevante durante la protección. En estos conceptos se basa el diseño racional de vacunas.

Así, el futuro de la inmunización dependerá del éxito de las investigaciones para que las vacunas sean fáciles de administrar, que no pierdan potencia en ausencia de refrigeración y que brinden una respuesta inmunitaria duradera. Y el INTA trabaja en este sentido.

Formulaciones que generan memoria

En la búsqueda de inmunizaciones nuevas, seguras y efectivas, desde 1997, Calamante trabaja en el desarrollo de vectores virales basados en poxvirus. En 2017, junto con Laboratorios Inmuner SA desarrolló la primera vacuna recombinante nacional para prevenir una enfermedad altamente contagiosa



en pollos jóvenes, que provoca pérdidas significativas para los productores.

Desarrollada en el país, R-VAC Inmuner IBD es la primera vacuna vectorizada con capacidad para inducir inmunidad protectora en pollos, luego de una única dosis que se aplica a las 24 horas de vida de las aves. Mediante técnicas de biología molecular, en base a cepas vivas altamente atenuadas del virus de la viruela de canario —que no infectan productivamente a aves ni a mamíferos—, Calamante y su equipo trabajaron para la obtención de R-VAC Inmuner IBD.

Se trata de un producto biológico único en su tipo en la Argentina contra el virus de la enfermedad infecciosa de la bolsa —llamada también enfermedad de Gumboro—. “Es una formulación preventiva que busca hacer frente a una enfermedad endémica que afecta a los pollos jóvenes que, como genera inmunosupresión, puede provocar mortandad o la complicación con otras enfermedades emergentes”, expresó la investigadora del INTA a cargo de la plataforma biotecnológica que permitió contar con el vector recombinante.

La Enfermedad Infecciosa de la Bursa (IBD) es una afección altamente contagiosa y atrofia la bolsa de Fabricio —órgano clave en el desarrollo del sistema inmunológico de las aves—, disminuye la efectividad de otras vacunas y aumenta la predisposición a diversas enfermedades, con significativas pérdidas económicas para los productores.

“Desde el INTA se trabajó en una plataforma de vectores virales basado en virus canarypox y la vacuna surgió en colaboración con Inmuner, una empresa que busca aplicar nuevas tecnologías a sus productos biológicos”, indicó Calamante.

Con la aplicación de una única dosis en el primer día de vida de las aves, el producto evita la replicación viral en pollos, la diseminación del vector en los animales inmunizados, la dispersión por contacto hacia otros animales y hacia el ambiente en general. Al respecto, la especialista explicó que “la seguridad que brinda quedó demostrada en los ensayos clínicos veterinarios donde se logró una alta eficacia contra el virus que afecta a las aves jóvenes”.

Contra el virus de la Diarrea Viral Bovina

En el sector agropecuario, la presencia de enfermedades infecciosas causa importantes pérdidas económicas directas e indirectas. El virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) es una enfermedad que tiene un gran impacto en la producción ganadera local: genera hasta un 8 % de las pérdidas reproductivas y abortos del rodeo, con costos que superan los 100 millones de dólares al año.

Con una tasa de prevalencia que promedio el 60 %, varía según la región del país y puede llegar hasta el 100 %, el virus se expresa en el ganado con manifestaciones clínicas digestivas, respiratorias y reproductivas.

En 2018, Bioinnovo SA y el laboratorio Vetanco SA presentaron al mercado Vedevax Block, una vacuna totalmente innovadora indicada para el control del VDVB. “Vedevax Block es la primera vacuna de nueva generación disponible en el mercado nacional contra esta enfermedad”, señaló Andrés Wigdorovitz, líder del desarrollo de la vacuna Vedevax y director científico de Bioinnovo SA, y



La eficacia de una vacuna depende de su elaboración, del tipo de antígeno usado, de cómo se administre y de los controles de calidad.

añadió: “Hasta su registro, la totalidad de las formulaciones contra el VDVB disponibles eran tradicionales, a virus entero inactivado”.

Vedevax Block posee ciertas características que la hacen única en el mundo: “La subunidad que se utiliza en su formulación se produce en células de insecto y se la acopló a una segunda molécula que la direcciona a las células del sistema inmune”, describió Wigdorovitz, quien analizó: “Esta combinación hace que resulte 20 veces más eficiente, en comparación con la proteína no acoplada”.

En las pruebas realizadas en bovinos “la vacuna mostró un comportamiento excelente”, aseguró Wigdorovitz, quien agregó: “Se lograron títulos de anticuerpos contra VDVB realmente altos que se mantienen por un período de 12 meses”. De este modo, se protegen animales de producción de carne y leche que siguen un plan sanitario bajo control profesional.

Y esto es importante porque el virus de la Diarrea Viral Bovina tiene la capacidad de inmunosuprimir a los animales infectados y los predispone a aumentar la frecuencia de infección con otros patógenos como: Rotavirus, Coronavirus,

Salmonella sp., *Pasteurella* sp. y Herpes virus bovino, entre otros.

El desarrollo de Vedevax Block se inició en el grupo de vacunas de nueva generación del Instituto de Virología del Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA) del INTA que, en su momento, dirigió Wigdorovitz y formó parte de la tesis doctoral de Andrea Pecora. Vale mencionar que antes de esta investigación se habían desarrollado tres tesis doctorales en el mismo grupo donde se evaluaron alternativas a esta vacuna.

Finalmente, fueron necesarios seis años más de trabajo intenso entre INCUINTA, BIOINNOVO y Vetanco para llegar a su lanzamiento en 2018.

Seguridad de las formulaciones

La eficacia de una vacuna depende de su elaboración, del tipo de antígeno usado, de cómo se administre y de los controles de calidad para constatar número de serie y fecha de vencimiento.

En la Argentina, el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) trabaja para garantizar que las vacunas de uso veterinario y la vacunación sean seguras. Es el organismo

encargado de ejecutar las políticas nacionales en materia de sanidad y calidad animal y vegetal e inocuidad de los alimentos de su competencia, así como de verificar el cumplimiento de la normativa vigente.

El SENASA controla y exige que se cumplan los estándares internacionales en cuanto al transporte, los centros de administración y la capacitación de los equipos de salud que realizan los procedimientos de vacunación. Además, establece el calendario y propone la adecuación de los períodos de vacunación en la producción animal.

Hay algunas enfermedades cuyas vacunas siempre se deben aplicar como la brucelosis, la aftosa y el carbunco, entre otras. En la actualidad, son de bajo costo y brindan buena protección luego de dos o tres dosis.

Si bien, no existe un plan sanitario universal aplicado a todos los establecimientos, cada productor evalúa con un médico veterinario los antecedentes del campo y el tipo de explotación.

Más información: Gabriela Calamante calamante.gabriela@inta.gov.ar; Andrés Wigdorovitz wigdorovitz.andres@inta.gov.ar

La vacuna innovadora Vedevax Block, para tratar la Diarrea Viral Bovina, posee características que la hacen única en el mundo y ser 20 veces más eficiente debido a su formulación.





De izq. a der. Las investigadoras Margarita Stritzler, Emilia Bottero y Gabriela Soto.

PRODUCTIVIDAD FORRAJERA

Editar el genoma de la alfalfa para aumentar su rendimiento

Desde el INTA aseguran que, mediante esta herramienta biotecnológica, se mejoran los caracteres agronómicos de interés de los alimentos consumidos por los animales, lo que impacta en una mayor sustentabilidad y eficiencia. Las ventajas de impulsar el diseño genético como estrategia productiva.

POR LAURA PÉREZ CASAR

Al analizar el escenario mundial, el aumento de la producción de alimentos por superficie es escaso, por lo que surge la necesidad de plantear estrategias que consideren el incremento del rendimiento por unidad de área. Ese es el camino para poder dar respuesta a la demanda de alimentos que, cada vez, será mayor.

En este contexto, los especialistas ponderan el rol que ocupa la edición génica vegetal al permitir mejorar los forrajes y alimentos consumidos por los animales, lo que impacta en una mayor sustentabilidad, previsión y eficiencia de las producciones. En el INTA impulsan la edición del genoma de la alfalfa para aumentar la obtención de biomasa, resistencia a estrés abiótico y el retraso de la floración.

Aníbal Pordomingo—coordinador del programa Carnes y Fibras del INTA—, subrayó el gran aporte que hace y hará la edición génica (EG) a la ganadería, tanto en el mejoramiento en animales como en las plantas en beneficio de la producción sustentable y la predictividad de los resultados, en especial, en ambientes extremos.

Y aseguró que “el mayor avance en el sector ganadero se va a dar por la edición génica en la producción vegetal, con grandes aportes a la ganadería de la mano de mejores forrajes y alimentos”.

Por su parte, Sergio Feingold—coordinador nacional del programa nacional de Biotecnología del INTA—, aseguró que “la edición génica representa una revolución tecnológica pocas veces vista, debido no solo a sus particulares ventajas técnicas,

sino a la posibilidad de introducir modificaciones genéticas con alta eficiencia e inusitada velocidad”.

En esta línea, Gabriela Soto—especialista en ingeniería genética de leguminosas del Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABiMo, INTA-CONICET)—, especificó: “El INTA trabaja en la edición del genoma de alfalfa, en especial en los genes que brindan información o están directamente relacionados con el aumento de la productividad de esta forrajera”.

“Con este objetivo, y mediante la técnica de edición génica vía CRISPR/Cas, logramos generar cuatro vectores binarios para la eliminación de un gen endógeno determinado (*knock out*) y para la edición puntual un gen endógeno (*base editing*) de alfalfa”, explicó Soto.

La edición génica representa una revolución tecnológica pocas veces vista.



Con herramientas biotecnológicas como la edición génica, se potencia el mejoramiento genético convencional.

Según especificó la investigadora, este trabajo permitirá potenciar el crecimiento y desarrollo vegetativo de la alfalfa, como así también obtener un fenotipo de mayor producción de biomasa fácilmente reconocible. Además, en estos individuos, se estudiará el retraso de la floración, que también es un carácter deseable en alfalfa.

A su vez, se trabajará en la tolerancia a condiciones de estrés abiótico y retraso de senescencia. “Para ello, realizaremos un *knock out* de un gen previamente caracterizado en nuestro grupo mediante mutantes en *Arabidopsis*”, indicó Soto, quien agregó: “Otro punto que considera la investigación es la fijación biológica de nitrógeno”.

Actualmente, el grupo de trabajo de ingeniería genética de leguminosas busca desarrollar una sintética experimental de alfalfa tolerante a herbicidas, editada genéticamente vía CRISPR/Cas9.

“Esto responde a una necesidad a partir de la problemática existente con las malezas”, reconoció Soto, quien advirtió sobre la presencia de más de 120 especies de malezas que generan entre un 50 y un 80 % de pérdidas en la productividad potencial en las pasturas de alfalfa en el país.

De acuerdo con la investigadora, “la falta de herbicidas selectivos, sumado a la ausencia de cultivares tolerantes y el mal manejo de los lotes intensifica la aparición de malezas resistentes, complejizando aún más el panorama futuro”. A lo cual agregó: “En la actualidad, el manejo de lotes de alfalfa con herbicidas es complejo y, por consiguiente, necesita de un alto grado de capacitación”.

Edición génica: una herramienta para superar las limitaciones

“Combinando técnicas convencionales con herramientas biotecnológicas, como la edición génica, pudimos superar las limitaciones del mejoramiento genético convencional”, aseguró Soto, quien no dudó en resaltar que “el trabajo se focalizó en mejorar la productividad y sustentabilidad del cultivo de alfalfa”.

Para eso, “identificamos los caracteres agronómicos de interés, generamos herramientas moleculares para mejorar y estudiar aspectos relevantes de caracteres seleccionados tales como la tolerancia a herbicidas y al estrés abiótico —particularmente la salinidad y el frío—, el retraso de la floración y la fijación biológica

de nitrógeno”, detalló la investigadora. Y adelantó que, en un futuro, pretenden explorar estrategias que permitan mejorar las *performances* de los cultivos frente a anegamiento y a sequía.

Una vez seleccionados los caracteres de interés, diseñaron las estrategias moleculares para su mejoramiento, vía edición génica. Para lo cual utilizaron herramientas bioinformáticas disponibles, como es la reciente secuenciación del genoma de alfalfa y la disponibilidad de microarreglos y otras herramientas bioinformáticas específicas para la especie.

De acuerdo con la técnica, “esta información acorta mucho los tiempos, ya que habilita tanto el estudio como el desarrollo directamente en el cultivo de interés y no indirectamente en especies modelos”.

En una primera instancia, se secuenció cada gen a editar para asegurar y diseñar guías, que serán las secuencias que dirijan la maquinaria de edición específicamente a la región que se quiere manipular, que hibriden perfectamente con la secuencia deseada (*target*).

Una vez confirmada la secuencia, se diseñaron los guías tomando la precaución de elegir aquellos con el menor porcentaje de hibridación con secuencias inespecíficas. De esta forma se minimiza el número de *off-targets* —genes modificados no intencionalmente—.

Luego, para cada uno de los caracteres se siguieron diferentes estrategias. Para el caso de la tolerancia a herbicidas, tanto los genes involucrados como sus mecanismos de tolerancia están ampliamente estudiados en la literatura y también por el INTA en alfalfa.

En base a toda la información disponible, se eligió la estrategia de mutaciones puntuales dirigidas. Así, se generaron dos vectores binarios para producir mutaciones puntuales en genes endógenos a través del sistema CRISPR/Cas9.

Para esto, se utilizaron vectores que poseen una caspasa, optimizada para plantas, que reconoce las secuencias *target*, pero que es enzimáticamente inactiva, fusionada a una enzima citidina deaminasa que produce la desaminación de las citosinas que se encuentran aguas arriba de la secuencia PAM del gen *target*.

En cuanto al resto de los caracteres, Soto especificó que la estrategia consistió en generar *knocks outs* de genes específicos, algunos de estos genes fueron

Una forrajera con numerosas ventajas

Considerada la reina de las forrajeras, la alfalfa se destaca por sus altos rendimientos de materia seca, excelente calidad forrajera, gran adaptabilidad a diversas condiciones ambientales y su capacidad para la fijación de nitrógeno.

Mientras que Córdoba es la principal productora de alfalfa pura, Buenos Aires es la mayor productora de esta forrajera consociada con gramíneas anuales o perennes. Como especie pura o consociada, la alfalfa integra el 58 % del total de las forrajeras de la Región Pampeana.

En esta área, la alfalfa se cultiva casi exclusivamente en condiciones de secano y es la principal especie forrajera del país, así como la base de la producción de carne y leche en la zona.

Sus rendimientos promedio en forraje —obtenidos en parcelas de cultivos puros correspondientes a la red de evaluación de cultivares del INTA— son de entre 6 toneladas de materia seca por hectárea por año en Anguil, La Pampa, y 20,5 en Marcos Juárez, Córdoba.

La extensa distribución que la alfalfa tiene en la Argentina supone un amplio rango de adaptación a las particulares condiciones de precipitaciones, suelos, temperatura, plagas, enfermedades y modalidades de manejo de cada zona.

En los últimos 25 años, se inscribieron cerca de 300 variedades en el Registro Nacional de Cultivares (INASE). Si se descuentan las obsoletas y las fuera del mercado por diversas razones, los materiales disponibles en el mercado rondan los 130.



elegidos en base a datos bibliográficos y otros en base a estudios en curso en el grupo de trabajo.

En todos los casos se eligió el sistema modular de vectores multiplex y, a partir de todos estos, se utilizó el sistema de clonado *Golden Gate* a fin de obtener vectores de expresión para la transformación estable en plantas dicotiledóneas. Por su parte, los guías fueron diseñados para hibridar en el primer y/o segundo exón del gen target ya que de esta manera aumenta la eficiencia del *knock out*.

“Se eligieron guías con un score elevado y el menor número de off-targets posibles”, detalló Soto quien, a su vez, explicó que “en los genes que forman parte de grandes familias se tuvo especial cuidado en no elegir guías que hibriden con zonas conservadas que pudieran *knock out* otro gen similar”.

Por último, indicó que todas las construcciones generadas, tanto para mutaciones puntuales como para *knock out* de genes de interés fueron realizadas por miembros del grupo en la Universidad de California, Davis —Estados Unidos—, en el marco de una colaboración con el laboratorio del Dr. Eduardo Blumwald.

La experiencia, líder del proyecto

A partir de su reconocida experiencia, el grupo de trabajo de ingeniería genética de leguminosas (IABiMo, INTA-CO-NICET) generó eventos transgénicos de alfalfa en forma eficiente para, a partir de estos, desarrollar sintéticas experimentales y realizar evaluaciones en condiciones de invernáculos como en campo.

“Según la especie, las estrategias que se usan para obtener organismos genéticamente editados son diferentes”, detalló Soto.

Para el caso de la alfalfa, la edición génica en todos los casos se realizará mediante el protocolo de transformación vía *Agrobacterium tumefaciens* y, luego, para los eventos prometedores se realizarán cinco ciclos de cruzamientos manuales con material *elite* seleccionado por mejoradores de alfalfa del INTA para obtener una sintética experimental con los caracteres modificados en *background* genético *elite* y libre de transgenes.

Más información: Gabriela Soto soto.gabrielacynthia@inta.gob.ar; Anibal Pordomingo pordomingo.anibal@inta.gob.ar; Sergio Feingold feingold.sergio@inta.gob.ar

La alfalfa es considerada la reina de las forrajeras con una extensa distribución en La Argentina.

LABORATORIO DE REFERENCIA

“Trabajamos para contar con vacunas seguras y eficaces”

Con esta frase Jessica Petrakovsky y Alejandra Bianchi valoran el trabajo que se lleva adelante en el Laboratorio Animal del SENASA dedicado, entre otras actividades, al control de calidad de biológicos, certificación para su comercialización y uso. Una tarea silenciosa para garantizar la sanidad animal y el estatus sanitario del país.

POR MARIO MIGLIORATI
FOTOGRAFÍA MERCEDES DO EYO



Alejandra Bianchi y Jessica Petrakovsky trabajan para garantizar la sanidad animal y el estatus sanitario del país.

“No somos un organismo burocrático, lo que hacemos tiene un sentido relacionado a la sanidad animal y a la salud pública”, afirma Jessica Petrakovsky, responsable del Departamento de Leptospirosis, quien junto con Alejandra Bianchi, médica veterinaria a cargo del sector de Esterilidad e Inocuidad, forman parte de la Coordinación de Bacteriología dependiente de la Dirección de Laboratorio Animal del SENASA, donde se realiza el muestreo oficial de biológicos y controles de calidad para garantizar productos inocuos y eficaces.

Durante la entrevista con RIA, las especialistas que trabajan en la Dirección Ge-

neral de Laboratorios y Control Técnico -el Laboratorio Nacional de Referencia en Martínez, provincia de Buenos Aires-, constituido por las direcciones de laboratorios animal y vegetal, reflexionan acerca de las inspecciones y procedimientos por las que atraviesan las vacunas bacterianas, virales y combinadas.

Dotado de tecnología de última generación, este laboratorio de referencia que ejerce funciones de control y fiscalización de la sanidad animal, vegetal y la inocuidad de los agroalimentos, define y establece los métodos y protocolos de análisis oficiales utilizados en Argentina.

Por su relevancia se posiciona como el primero en su tipo en Latinoamérica y entre los principales del mundo que cuentan con un Nivel 4 de bioseguridad de acuerdo con los parámetros de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). El Laboratorio Animal es de referencia para esta organización mundial en brucelosis, fiebre aftosa, leptospirosis, tuberculosis bovina y paratuberculosis.

Para Petrakovsky, licenciada en biología y magister en Salud Pública, designada por la OIE como referente experta en leptospirosis, se debe transmitir “al productor que es mejor tener una vacuna controlada que una vacuna no controla-



“La prevención tiene un impacto significativo en la salud animal y humana”.
(J. Petrakovsky)

da, porque no tiene sentido el gasto económico y la aplicación de un biológico si no va a ser seguro y eficaz”.

Remarca la necesidad de comunicar para que la gente comprenda que el trabajo realizado en el laboratorio “es para el bienestar de la sanidad animal”, lo cual responde a cuidar “la economía del productor y la salud pública”.

Con 20 años en el SENASA, Petrakovsky y Bianchi son parte de un equipo de profesionales del laboratorio cuya función es verificar que cada día se cumplan con los requerimientos sanitarios exigidos por el país y los países compradores de biológicos veterinarios.

¿Por qué es necesario contar con vacunas e inmunizar?

Jessica Petrakovsky (JP): La respuesta es simple: para prevenir enfermedades; pero es muy importante prevenir para tener que curar menos. La prevención es el primer paso y, como tal, es mucho más importante de lo que la gente percibe.

¿De qué manera impacta la prevención en la producción animal y en la salud humana?

JP- La prevención tiene un impacto significativo en la salud animal y humana. La aparición de un brote de una enfermedad para la sociedad es más tangible

que la prevención en sí misma. En lo que respecta a la salud humana, como ciudadanos, hemos visto en ciertas oportunidades que la prevención nace a partir de malas experiencias. La gripe A es una muestra. Después de un año complicado se tomó noción del problema y la población de riesgo comenzó a vacunarse. La gente reacciona ante las malas experiencias, pero es muy importante que la población tome conciencia que para no llegar a estos extremos hay que prevenir.

Prevenir es fácil y barato, curar siempre será más caro que prevenir. Y hay que transmitirlo a la población con un lenguaje claro para llegar a todas las personas, que entiendan que la prevención es de suma importancia tanto del lado humano como del animal.

¿Cómo se trabaja en este mundo de la salud animal?

JP- En el mundo de la salud animal y al igual que en humanos, hay vacunas obligatorias y optativas donde cada productor o dueño de mascota decide aplicarla o no. En el caso de las obligatorias, por el alto impacto en la salud animal y humana, debe cumplirse con la ley. Pero en estas como en las no obligatorias resulta necesario la capacitación y la comunicación. Es prioritario que la gente entienda: “¿Por qué hay que vacunar?”, que terminar imponiéndoselas. Ya que si lo com-

prende es más fácil a que simplemente sea una obligación.

¿Cómo perciben la aceptación y las resistencias?

JP- Desde mi experiencia, en cuanto a las vacunas de leptospira, con las que habitualmente trabajo, la gente entiende que hay que vacunar pero el factor económico incide. Asimismo, hay que hacer una diferencia entre pequeños y grandes animales, si bien la vacuna se aplica en ambos grupos. Puedo señalar que es muy fluctuante si se considera el aspecto económico y sin tomar noción de que le saldrá más caro si no vacuna.

Aquí juega un rol clave el profesional veterinario que asesora al productor. En cuanto a la necesidad de vacunar y al valor agregado que esto representa o le aporta a su producción.

Alejandra Bianchi (AB): Coincido con ese concepto. En animales de producción considerados grandes, como bovinos o cerdos, siempre se piensa en la inversión para obtener beneficios en el menor tiempo. Por lo tanto, aquellas vacunas que están por fuera del plan obligatorio si pueden evitarlas, las evitan. Por lo general los productores carecen de la visión de que se trata de una medida preventiva, por lo que deberían pensar: “Si estos animales se enferman porque no vacuné, tal vez mi pérdida

“Si revisamos cómo es el control de vacunas en el mundo, somos uno de los pocos países que controla todas las series de vacunas”.
(J. Petrakovsky)



sea mucho mayor en números”, que si decide comprar vacunas para todo el lote de animales.

¿Qué lugar le corresponde al SENASA en cuanto al control de las vacunas?

AB- Tiene la función de controlar las series o lote que se presentan a control oficial y que son avaladas con una estampilla. De esta manera, quien compra una vacuna para un animal de compañía o de producción, tiene que saber que ha sido controlada no solamente en el lugar de elaboración, sino también en el SENASA.

Para certificar la validez de una vacuna y su llegada al mercado, ¿qué controles se realizan y qué requisitos debe atravesar?

JP- El proceso se inicia cuando un laboratorio quiere comercializar una nueva vacuna en nuestro país, para lo cual debe gestionar un expediente de registro en la Dirección de Productos Veterinarios del SENASA. Posteriormente pasa al Laboratorio Animal para su análisis técnico. Aquí es donde se empieza a estudiar el producto, desde su cepa semilla, los controles que le haya realizado el laboratorio elaborador ya sea en Argentina como en otro país, si corresponde a un producto importado. Es decir, los con-

troles de calidad, especie de destino y la forma de elaboración; esto es responder a los requerimientos del Anexo III de la resolución MERCOSUR para los productos veterinarios que son comercializados. Con los expedientes electrónicos se agregó un anexo para vacunas bacterianas, virales o combinadas donde figuran otros requerimientos como son los certificados de cepas del agente biológico.

Básicamente lo importante es que la vacuna esté hecha con cepas que sean inmunógenas; que no solo estén tipificadas, sino que tengan la capacidad de producir inmunidad, que la vacuna haya sido formulada a través de un proceso de elaboración que no altere las características originales de las cepas y que cuente con controles de calidad que permitan verificar todo el proceso.

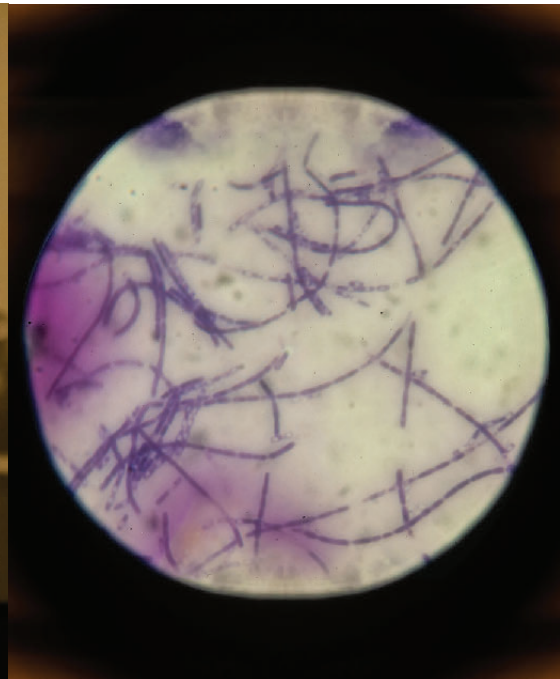
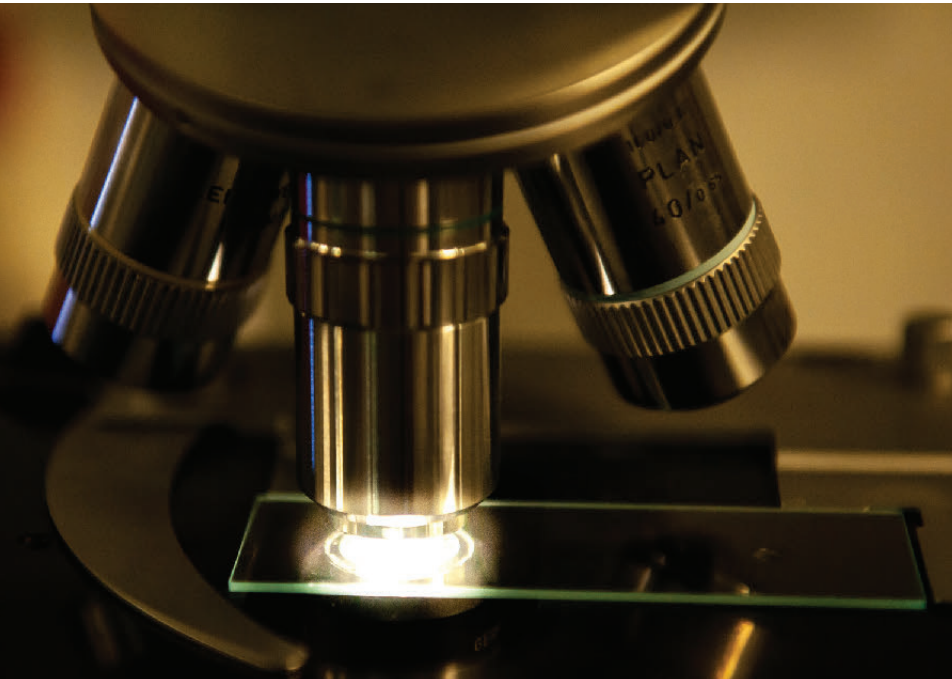
Y ustedes, ¿en qué parte de todo este recorrido intervienen?

JP y AB- Cuando cumplimentaron estos requisitos, el laboratorio elaborador solicita el retiro de la primera serie a control. Con la primera y con las subsiguientes series el mecanismo es el mismo. El elaborador se comunica con el Centro Coordinador de Biológicos para solicitar el retiro y control del producto. Inspectores del SENASA retiran la muestra del laboratorio elaborador. La serie de la

vacuna presentada deberá estar previamente estampillada para definir el tamaño. Esto permite tener un control sobre los resultados de los lotes (series). Una vez en la Dirección de Laboratorio Animal (DLA) las muestras se derivan a las distintas áreas involucradas para realizar los controles correspondientes. Este proceso finalizará con el certificado de uso y comercialización de esa serie.

Una vez que la primera serie aprueba los controles correspondientes, la Dirección de Productos Veterinarios le otorga el certificado de uso que corresponde al producto y tiene una validez de diez años. Ahora bien, las series subsiguientes van a llegar al laboratorio de la misma manera para ser analizadas. Se le emitirá un certificado de uso y comercialización de ese producto, para cada serie y para un número determinado de dosis lo que le permitirá al laboratorio su venta en las distribuidoras.

“Los controles de calidad realizados en la DLA responden a estándares internacionales”.
(A. Bianchi)



Y de qué tiempos hablamos...

AB- Todo va a depender del tipo de vacuna y de los componentes que tenga. El laboratorio debe realizar estos controles en cada serie en su establecimiento y antes de liberar el lote. Una vez que fue presentado en el SENASA, los controles de calidad y sus resultados tienen que coincidir con lo que ha sido declarado previamente por el laboratorio que elaboró el producto. Los controles de calidad realizados en la DLA responden a estándares internacionales.

Los tiempos que manejamos varían entre 30 a 45 días, aunque a veces frente a dudas en los controles se repiten por lo que se extienden los tiempos para obtener un resultado.

¿Qué sucede con aquellos productos que no pasaron los controles?

JP- Puedo tomar como ejemplo la vacuna de leptospira que tiene cinco controles. Cuando uno de estos da mal, el laboratorio puede o no pedir el re-control. De hacerlo, se realiza un nuevo control sobre un paquete, de los tres que se retiraron. Y si vuelve a dar mal se produce el rechazo y posterior decomiso del lote/serie del producto.

Y frente a una denuncia al SENASA, ¿cómo actúan?

JP- Las denuncias que llegan a la DLA pueden proceder de aquellas efectuadas directamente en el Laboratorio Animal, en la Dirección Nacional de Sanidad Animal, en la Dirección de Asuntos Jurídicos o por vía de farmacovigilancia. Se remite el expediente con la denuncia y las muestras incautadas para trabajar sobre estas. De no haberlas, se trabaja sobre el paquete dos o contramuestra que quedó depositado en el SENASA hasta su vencimiento, mientras que la muestra tres queda en poder del laboratorio.

Por ejemplo, en el caso que se hayan reportado abscesos en el lugar de aplicación en los animales, se trabaja en relación con la inocuidad o la esterilidad, o, si la vacuna no protegió correctamente, se evalúa nuevamente la eficacia.

AB- Por lo general las denuncias aparecen cuando hay muerte de animales. Ahí toma parte el veterinario y la oficina del SENASA que corresponde a esa localidad. Se labra un acta y se verifica si existen veterinarias y distribuidoras que venden el producto para recuperar e interditar el remanente. En este laboratorio, se repiten todos los controles y se revisan los antecedentes que llevaron a su aprobación.

¿En qué lugar se encuentra el país en cuanto a la capacidad para producir vacunas?

“A nosotros nos funciona controlar todo y puedo decir que no hay otro país de Latinoamérica que lo haga”.
(J. Petrakovsky)

JP- En el país existen laboratorios que cuentan con tecnologías de punta y producen vacunas para exportar.

Si revisamos cómo es el control de vacunas en el mundo, somos uno de los pocos países que controla todas las series de vacunas. En otros países se evalúan los protocolos, pero, por ejemplo, en Estados Unidos y Canadá se controla un porcentaje de la producción. En el caso de la vacuna de leptospira, Argentina es el único país que realiza prueba de eficacia de cada serie que se produce.

¿Cómo es la relación con otros organismos científicos?

JP- Trabajamos muy interconectados en zoonosis. En cuestión de leptospirosis estamos en contacto los organismos que tratan el tema en el país, ya sea el INTA, el Instituto Nacional de Enferme-



“No debemos olvidar que esas vacunas van a los animales de producción que terminan como alimento”.
(A. Bianchi)

dades Respiratorias “Dr. Emilio Coni”, dependiente de la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud “Dr. Carlos Malbrán”, Zoonosis Rurales de Azul y la Secretaría de Salud de la Nación. En general, cuando se presenta un caso en humanos lo que hay que estudiar es el ambiente y, en consecuencia, la parte animal siempre forma parte cuando se habla de zoonosis.

¿Qué tipo de vacunas controlan?

AB- Las más comunes son las vacunas inactivadas y las vivas a virus y bacterias atenuadas. Después aparecen las recombinantes como las más nuevas. Pero también existen vacunas aplicadas a tristeza bovina contra babesiosis y anaplasmosis que se exportan. Las hay para aves en forma de pastilla efervescente y en gránulos. Y, por ejemplo, en el caso de leishmania trabajamos con una vacuna relativamente nueva con una elaboración distinta. En estos casos, al ser un producto nuevo el estudio del expediente demanda mucho más tiempo.

JP- En cuanto a controles, las aves se llevan el mayor número de series compuestas por dosis muy numerosas. Todo lo contrario sucede con pequeños animales donde las series se componen de menor cantidad de dosis.

¿Cuál es la importancia de este laboratorio para la región?

AB- Este laboratorio de referencia cuenta con Nivel 4 de bioseguridad OIE donde es muy importante la cantidad de pruebas que se pueden realizar. Además de contar con un bioterio, se puede trabajar con animales medianos y grandes lo que le da una trascendencia importante en la región.

JP- A nosotros nos funciona controlar todo y puedo decir que no hay otro país de Latinoamérica que lo haga.

¿Cuál es el futuro de las vacunas?

JP- El futuro de las vacunas está en producir menores riesgos asociados y menores costos económicos para el productor.

AB- No debemos olvidar que esas vacunas van a los animales de producción que terminan como alimento, por lo que tienen que ser productos eficaces, inocuos y de buena calidad.

Y para qué trabajan...

JP- Trabajamos para contar con vacunas seguras y eficaces.

Más información: Jessica Petrakovsky
jpetrako@senasa.gob.ar; Alejandra Bianchi abianchi@senasa.gob.ar

Mejoramiento genético del perfil de ácidos grasos del aceite de maíz

DELUCCHI, C.¹; PERCIBALDI, M.^{1,2}; TREJO, M.²; EYHÉRABIDE, G.^{1,2(*)}

RESUMEN

El aceite de maíz es un subproducto de la industria de molienda seca y húmeda, apreciado por su calidad nutricional. Los ácidos grasos saturados incrementan los niveles de colesterol total, mientras que los ácidos insaturados, como el ácido oleico, disminuyen los niveles sanguíneos de colesterol LDL (colesterol “malo”) y aumentan los de colesterol HDL (colesterol “bueno”). El objetivo general consistió en desarrollar y mejorar poblaciones de maíz por mayor contenido relativo de ácido oleico en el aceite, mediante selección recurrente fenotípica. A fin de evaluar la respuesta a la selección, se compararon los promedios de composición relativa de ácidos grasos de los granos de espigas S1 en tres ciclos consecutivos de selección. El método de selección aplicado fue efectivo para elevar el porcentaje de ácido oleico. A su vez, a partir de un panel de líneas elite de maíz desarrolladas por INTA Pergamino, se realizó la caracterización fenotípica, con el fin de determinar la variabilidad genética y heredabilidad para la composición ácida del aceite. El análisis de los componentes de varianza estimados permitió concluir que el componente genotípico fue el que contribuyó con la mayor parte a la variabilidad fenotípica. Las altas heredabilidades encontradas nos permitieron indicar una elevada confiabilidad del fenotipado llevado a cabo para la búsqueda de asociaciones con marcadores moleculares. Teniendo en cuenta la clasificación de los ácidos grasos según grupos heteróticos pudo detectarse una alta diversidad entre grupos, y un mayor contenido de oleico en el germoplasma de origen argentino comparado con el americano. Se realizaron también tres estudios a nivel molecular. El primero consistió en la búsqueda de marcadores moleculares asociados a la composición relativa de ácidos grasos a partir de poblaciones biparentales producto del cruzamiento de dos líneas contrastantes. El segundo estudio consistió en determinar cambios en la frecuencia de marcadores entre ciclos de selección recurrente de una población de maíz para incremento del porcentaje relativo de ácido oleico. En el tercer estudio se evaluó la utilización de marcadores en la conversión de líneas elite de maíz a versiones alto oleico. Se detectaron QTLs para contenido diferencial de ácido oleico y linoleico en el cromosoma 6, resultado que coincidió con lo hallado a través de las variaciones en las frecuencias alélicas a lo largo de los ciclos de selección evaluados. Por último, se pudo observar una fuerte asociación entre el contenido relativo de ácido oleico y los marcadores moleculares analizados en plantas provenientes de las líneas LP29 y LP214, a las cuales se les está incorporando el carácter alto oleico mediante cruzamientos y retrocruzamientos. Se señala, de esta forma, la relevancia de utilización de estos marcadores en programas de selección asistida para maíz alto oleico.

Palabras clave: calidad de aceite, ácido oleico, marcadores moleculares.

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) INTA Pergamino, Ruta 32 km 4,5, CC 32, 2700 Pergamino, Argentina. Correo electrónico: delucchi.carla@inta.gob.ar

²Universidad Nacional Noroeste Buenos Aires (UNNOBA). Correo electrónico: percibaldi.nora@inta.gob.ar

(*)Redactores de la compilación. El grupo de trabajo en sus diferentes etapas contó con la participación de Francisco Borrás, Carla Delucchi, Guillermo Eyherávide, María José Hourquescos, Ana Rosa Schlatter, Mabel Percibaldi, José Robutti, Sofía Olmos, Laura Orcellet, María Guillermina Ruiz y Manuel Trejo.

ABSTRACT

Maize oil is a co-product of the dry and wet milling industry, highly appreciated for its nutritional quality. Saturated fatty acids increase levels of total cholesterol, while unsaturated acids such as oleic acid, decrease blood levels of LDL-cholesterol ("bad" cholesterol) and increase HDL-cholesterol ("good" cholesterol). The general objective was to develop and improve maize populations for greater relative content of oleic acid in the embryo, through phenotypic recurrent selection. In order to evaluate the response to selection, the averages of relative fatty acid composition of S1 ear kernels were compared across three consecutive cycles of selection. The method of selection applied was effective to increase the percentage of oleic acid. In addition, a panel of elite maize inbred lines developed by INTA Pergamino, was evaluated in order to determine the genetic variability and heritability of the acidic composition of oil, for future mapping association studies. The analysis of the estimated components of variance allowed us to conclude that the genotypic component contributed most to the phenotypic variability. The high values of heritability obtained indicated a strong reliability of the phenotyping carried out for the search of associations with molecular markers. Given the classification of fatty acids according to heterotic groups, a high diversity between groups was detected, and a greater oleic acid content in the germplasm of Argentine origin compared with the American. Furthermore, three studies at the molecular level were performed. The first consisted in the search of molecular markers, SSR, associated with the relative composition of fatty acids from populations resulting of the crossing of two contrasting lines. In the second study, we determined changes in the frequency of SSR between cycles of recurrent selection of a maize population to increase the relative percentage of oleic acid. In the third study, we evaluated the use of molecular markers in the conversion of elite maize lines to high oleic versions. QTLs for differential oleic and linoleic acid content were detected on chromosome 6, a result consistent with those obtained through variations in allele frequencies over the cycles of selection evaluated. A strong association was also found between the relative content of oleic acid and the molecular markers analyzed in plants from lines LP29 and LP214, to which the high oleic character is being incorporated by means of crossings and backcrosses. The relevance of use of these markers in assisted selection programs for high oleic maize is thus indicated.

Keywords: oil quality, oleic acid, molecular markers.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los principales cultivos a nivel mundial, de origen americano. Pertenece a la familia de las Poáceas (Gramíneas), tribu Maydeas, es la única especie cultivada de este género y una de las más productivas. Fue el primer cereal en ser sometido a rápidas e importantes transformaciones tecnológicas en su forma de cultivo. Se adaptó a ser cultivado en una amplia diversidad de ambientes, a diferencia de muchos otros (Paliwal, 2001).

El maíz es una planta diclina monoica, con las flores masculinas y femeninas dispuestas en inflorescencias separadas y de diferente forma. La inflorescencia femenina es una espiga que crece a partir de yemas axilares de las hojas y la inflorescencia masculina se desarrolla en el extremo terminal de la planta. Es una planta alógama, con bajo porcentaje de autofecundación y polinización anemófila.

La ubicación separada de la inflorescencia masculina y femenina facilita la producción de semilla híbrida, y consecuentemente la explotación de la heterosis o vigor híbrido. Presenta un genoma diploide y una dotación de 32.000 genes distribuidos en 10 pares de cromosomas ($2n=2x=20$), lo que supera los aproximadamente 20.000 genes humanos ordenados en 23 pares de cromosomas. La longitud del genoma de maíz completo (2.300 millones de pares de

bases) es similar a la del humano (2.900 millones de pares de bases) (Schnable *et al.*, 2009; Wei *et al.*, 2009). A pesar de su gran tamaño, la estructura de su genoma presenta de un 60 a un 80% de ADN repetitivo (Arumuganathan y Earle, 1991).

El maíz es una especie única por la gran diversidad genética que le confiere un amplio rango de adaptación ambiental, resistencia a estreses bióticos y abióticos, y especialmente múltiples usos industriales y alimentarios.

Características del grano de maíz y su industrialización

El grano de maíz está constituido por cuatro estructuras principales: pericarpio o cáscara, germen o embrión, endosperma y pedicelo. El pericarpio posee un elevado contenido de fibra cruda, aproximadamente el 87%; constituida fundamentalmente por hemicelulosa y celulosa. El germen se caracteriza por un elevado contenido de grasas, proteínas y minerales. El endosperma posee un alto contenido de almidón, 87% y aproximadamente un 8% de proteínas. El pedicelo está compuesto principalmente de celulosa y hemicelulosa, entre otros carbohidratos complejos (Álvarez, 2006).

La industrialización del maíz es una de las actividades agroindustriales que genera mayor valor agregado, puesto que

permite obtener gran número de productos que se consumen en forma directa o son insumos de otras industrias. Comprende dos procesos tecnológicamente diferentes: la molienda húmeda y la molienda seca. Las industrias de las moliendas utilizan como materia prima básica el grano de maíz entero y a lo largo de ambos procesos industriales se van separando los diversos componentes del grano. Cada una de ellas permite obtener distintos productos (Álvarez, 2006).

El proceso de molienda seca se basa en una completa separación de las distintas partes que componen al grano de maíz, produciendo la máxima cantidad de endosperma como trozos discretos, removiendo tanto como sea posible el germen y pericarpio para dar un producto de baja grasa y baja fibra; recuperando la mayor proporción posible de germen como trozos grandes y limpios. Esta molienda prefiere el maíz colorado duro por los mayores rendimientos en "grits" de tamaño adecuado a diferentes aplicaciones (cervecería, snack, extrusión, etc.) y por la coloración anaranjada, preferida para los "grits" destinados a la preparación de polenta (Robutti, 2004).

El proceso de la molienda húmeda permite separar en un medio acuoso los distintos componentes del grano: carbohidratos, proteínas y lípidos. Para esto, antes de ingresar al molino, se somete el grano de maíz a un proceso de maceración con agua sulfurada caliente para que el grano se ablande, los trozos blandos pasan luego a los molinos y separadores donde el germen es separado y se extrae de este el aceite de maíz. Los componentes restantes del grano (almidón, gluten y fibras) se muelen y pasan nuevamente por separadores donde se retira la fibra, se separa el almidón y el gluten. Luego se lava y se seca el almidón, que puede ser usado como tal o ser convertido en edulcorantes, bioproductos o etanol (Álvarez, 2006).

Según un estudio realizado por la Fundación Mediterránea, en Argentina seis plantas están destinadas a la molienda húmeda, las que producen dextrosa, glucosa, almidón, fructosa y derivados como el aceite de maíz. Estas alcanzan a procesar en conjunto más de 3.000 toneladas diarias de maíz. Las exportaciones del sector llegaron en 2009 a las 120 mil toneladas, con ingresos de alrededor de 60 millones de dólares. El aceite de maíz fue el producto más representativo, ya que aportó el 41% del monto total de las exportaciones. Le siguen, tanto en cantidades como en valor, el almidón, la glucosa y la fructosa (IERAL, 2011).

El aceite de maíz

El mercado alimentario mundial, desde hace algunos años, comenzó a demandar productos diferenciados de mayor calidad para diferentes fines. En el segmento de los aceites vegetales que se producen en la Argentina, son muy importantes los de girasol y de soja en los mercados oleaginosos nacional e internacional. Si bien el maíz participa en menor medida en el mercado de aceites (debido a que es un subproducto), este es muy aceptado y apreciado por su sabor suave, elevado punto de humo, alto porcentaje de triglicéridos (98% en el aceite refinado), alto contenido de ácidos

grasos insaturados, además de tocoferoles (vitamina E) con propiedades antioxidantes (Eyhérbide *et al.*, 2005). El perfil ácido del aceite de maíz hace que este sea adecuado para fritura cuando resulta lo suficientemente económico en países de alta producción como EE. UU. o Argentina.

La competitividad del aceite de maíz en los mercados justifica modificaciones en su composición que permitan abrir nuevas aplicaciones para la alimentación y el uso industrial (Dunlap *et al.*, 1995). Dada su importancia en la nutrición humana, los ácidos grasos que reciben mayor atención son el palmítico (16:0), el esteárico (18:0), el oleico (18:1), el linoleico (18:2) y el linolénico (18:3). La composición típica de un aceite de maíz es: palmítico (11%), esteárico (2%), oleico (24,1%), linoleico (61,9%), linolénico (0,7%). En menor proporción (<1%) contiene otros ácidos grasos como láurico (12:0), mirístico (14:0), palmiteico (16:1), araquidónico (20:0) y erúxico (22:1) (Lambert, 2001). Una característica importante de los aceites de maíz es su elevado nivel de ácidos grasos insaturados (18:1 y 18:2) y sus bajos niveles de ácidos grasos saturados (16:0 y 18:0) (Weber, 1987). A pesar de su alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados, el aceite de maíz es estable dado que posee escaso porcentaje del ácido graso inestable 18:3 y niveles relativamente altos de antioxidantes naturales (Weber, 1983).

Características de los ácidos grasos

Estructura. Los ácidos grasos poseen en su estructura largas cadenas hidrocarbonadas (4 a 24 átomos de carbono) con un grupo metilo (CH₃-) en un extremo y un grupo ácido carboxílico (COOH-) en el otro.

Ácidos grasos saturados. Los ácidos grasos saturados contienen únicamente enlaces sencillos entre los carbonos y tienen la fórmula general CH₃(CH₂)_n-COOH. Están unidos a las cadenas carbonadas el número máximo de átomos de hidrógeno que estas pueden llevar, haciéndolos muy estables. Los enlaces sencillos entre dos átomos de carbono (C-C) pueden girar libremente. Por consiguiente, la molécula del ácido graso es extremadamente móvil y las cadenas carbonadas de los ácidos grasos pueden disponerse en líneas rectas y ocupar menos espacio. Por esta razón, las grasas con un gran número de ácidos grasos saturados son sólidas a temperatura ambiente. Por lo que respecta a su uso, esto significa que pueden soportar altas temperaturas y se pueden conservar durante largo tiempo (Velásquez, 2006).

Ácidos grasos insaturados. Contienen al menos uno o más dobles enlaces entre los carbonos. Los ácidos grasos monoinsaturados contienen un solo doble enlace y el ejemplo más común es el ácido oleico. Los ácidos grasos poliinsaturados linoleico y linolénico contienen dos y tres dobles enlaces, respectivamente. Generalmente los ácidos grasos insaturados son líquidos a temperatura ambiente y tienen puntos de fusión bajos. Cuantos más dobles enlaces haya, más insaturados y reactivos son los ácidos grasos.

Isomería. Los ácidos grasos cis son ácidos grasos insaturados que poseen los grupos semejantes o idénticos

(generalmente grupo -H) en el mismo lado de un doble enlace. Los ácidos grasos con dobles enlaces cis no son cadenas rectas, sino que poseen un "codo" en el punto donde está el doble enlace.

Los ácidos grasos trans son isómeros donde los grupos -H se disponen uno a cada lado del doble enlace, son de cadenas rectilíneas. Los dobles enlaces cis son mucho más comunes en los seres vivos que los trans. (Griguol *et al.*, 2007). Los ácidos grasos trans son un tipo de ácido graso insaturado que se encuentra principalmente en alimentos industrializados que han sido sometidos a hidrogenación (Ortega, 2013).

Síntesis de ácidos grasos

La síntesis de los ácidos grasos se produce en el plastidio y requiere de compuestos carbonados básicos provenientes de la fotosíntesis y de poder reductor (NADPH +H y NADH). Para la síntesis de ácidos grasos se requiere que el Acetil-CoA, precursor de muchos compuestos en células autotróficas y heterotróficas, sea sometido a una carboxilación, a través de un complejo enzimático llamado Acetil-CoA Carboxilasa, dando como resultado Malonil-CoA (un compuesto de tres átomos de carbono) (Connor y Hall, 1997).

La síntesis propiamente dicha de ácidos grasos es una secuencia de reacciones que incluye un gran complejo multienzimático, llamado Ácido Graso Sintetasa, compuesto por seis enzimas y una proteína transportadora. La primera reacción que se produce es la unión de una molécula de Acetil-CoA con una molécula de Malonil-CoA que, después de una descarboxilación, forma un compuesto de 4 átomos de carbono. A partir de este compuesto se producen sucesivas elongaciones de la cadena carbonada, mediante la incorporación de Malonil-CoA y la liberación de dióxido de carbono. El complejo Ácido Grasa Sintetasa puede elongar la cadena hasta un máximo de 16 carbonos (ácido palmítico).

A partir del ácido palmítico se producen los restantes ácidos grasos presentes en las plantas mediante la acción de diferentes reacciones enzimáticas. El ácido palmítico se elonga una vez más para formar el ácido esteárico (18:0). En esta reacción interviene otra enzima elongasa, llamada KAS II, que incorpora y descarboxila una molécula más de Malonil-CoA. El ácido esteárico puede desaturarse por acción de una enzima llamada estearato desaturasa (SAD Δ^9), para producir una molécula de ácido oleico (18:1). El ácido oleico a su vez se puede desaturar para producir ácido linoleico (18:2) mediante la enzima oleato desaturasa (ODS Δ^{12}). Esta reacción no se produce en el plastidio, sino en el citoplasma, por lo cual los ácidos grasos formados anteriormente deben salir del plastidio. Ello requiere proteínas transportadoras ubicadas en las membranas de dicha organela. El ácido linoléico (18:3) se produce por la desaturación del ácido linoleico debido a la acción de la enzima Linoleato desaturasa (FAD Δ^{15}).

Los ácidos grasos formados no se encuentran (en su mayor parte) en estado libre en las células vegetales, sino que están unidos a una molécula de glicerol formando tria-

glicéridos, a través de una serie de reacciones que se conocen como la Vía Kennedy (Mantese *et al.*, 2006).

Factores que afectan la composición de ácidos grasos en maíz

Los dos factores principales que afectan el perfil de ácidos grasos del aceite de maíz son el genotipo y el medioambiente, pero probablemente como indicaron Corcuera (2013) y Lambert (2001), el empleo de diferentes líneas parentales (genotipos) ha sido la causa primordial de la mayor variabilidad encontrada en la composición del aceite de maíz en las últimas décadas.

Control genético de ácidos grasos

Por un lado, el contenido de aceite de maíz es un carácter que se ve afectado por una serie de loci de carácter cuantitativo (QTL) (Alrefai *et al.*, 1995; Mangolin *et al.*, 2004; Song, *et al.*, 2004; Wassom *et al.*, 2008). Estudios de mapeo genético y la utilización de marcadores relacionados con los caracteres de la composición de aceite en maíz informaron que múltiples (> 50) QTL se encuentran implicados en la síntesis y composición de ácidos grasos (Laurie *et al.*, 2004). Recientemente, se detectaron 42 QTL que se asocian con la composición y concentración de aceite en 21 regiones genómicas de maíz en una población recombinante derivada de la cruce entre la línea normal B73 y la línea de alto aceite By804 (Yang *et al.*, 2010). Por otro lado, Zheng *et al.* (2008) han encontrado un QTL (qHO6) en el cromosoma 6 que afecta el contenido de aceite y de ácido oleico en el grano de maíz. Este QTL codifica una acil-CoA:diacilglicerol aciltransferasa (DGAT1-2), que cataliza la etapa final de la síntesis de aceite. Una inserción de fenilalanina en DGAT1-2 en la posición 469 (F469) fue responsable del aumento del contenido de aceite y de ácido oleico. La expresión del alelo DGAT1-2 fue eficaz para aumentar en un 41% el contenido de aceite y en un 107% el porcentaje de ácido oleico (Chai *et al.*, 2011; Motto *et al.*, 2010; Balconi *et al.*, 2008).

La composición de ácidos grasos en maíz, a su vez, está controlada por una serie de genes mayores que codifican para enzimas desaturasas. Mediante estudios de mutagénesis se detectó una mutación en el gen *olc1* que incrementaba la concentración de ácido oleico en el aceite de maíz de granos de la línea B73, desde 27% hasta 52%, mostrando efecto aditivo en su expresión. Esta mutación se localizó en el brazo largo del cromosoma 1. No se conoce el efecto metabólico del gen *olc1*, pero de acuerdo a Robbelen (1991), posiblemente se producirían modificaciones que conducirían a un aumento en los niveles de ácido oleico debido a que evitaría la desaturación de este. Una mutación que afecte la desaturación del ácido oleico podría ser una explicación para el efecto de *olc1*, dado que la mayor parte del incremento en la composición de oleico causado por *olc1* se produjo a expensas del pool de ácido linoleico (Wright, 1995).

La vía de biosíntesis de ácidos grasos presentada por Browse y Somerville (1991) indica que un solo gen, que co-

difica para la enzima omega-6-desaturasa, convierte oleico (18:1) en linoleico (18:2) insertando un doble enlace en la posición omega-6. El locus *ln1* correspondería al gen de la omega-6-desaturasa (Alrefai *et al.*, 1995).

Existe gran variabilidad en la calidad del aceite de maíz, con respecto a las diferentes composiciones de ácidos grasos. Según la FAO (2003), el aceite de maíz tiene bajo nivel de ácidos grasos saturados (ácido palmítico y esteárico con niveles medios del 11% y 2%, respectivamente), pero posee alta proporción de ácido linoleico con un promedio del 24%. Por el contrario, Jellum (1970) tras analizar granos de maíz de numerosos materiales introducidos y nativos de EE. UU., así como de 140 líneas endocriadas australianas, encontró los siguientes rangos de perfiles de ácidos grasos: 6-22% ácido palmítico; 0,6-15% ácido esteárico; 14-64% ácido oleico y 19-71% ácido linoleico. Más tarde, Boyer y Hannah (2000) señalaron que este aceite contiene en promedio un 50% de ácido linoleico, 40% de ácido oleico y 1% de ácido linolénico mientras que Lambert (2001) halló una composición algo diferente: linoleico (62%), oleico (24%), linolénico (0,7%) y además cantidades muy reducidas de ácido láurico, mirístico, palmitoleico, araquídico, behénico, erúxico y lignocérico. Saleem *et al.* (2008), al estudiar el aceite de diez poblaciones de maíz pakistaní, encontraron un 12,0-37,3% de ácido oleico, 21,0-65,3% de ácido linoleico y 10,4-21,3% de ácido palmítico. En la Argentina, la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos (SAGPyA) comunicó en el año 2003 que la composición promedio de ácidos grasos para el maíz producido en el país es 45,6% ácido linoleico; 37,2% ácido oleico; 0,6% ácido linolénico; 13,6% ácido palmítico y 1,7% de ácido esteárico. Estos promedios fueron luego corroborados por la Asociación Argentina de Grasas y Aceites (ASAGA) durante la 1.^{ra} Jornada de Lípidos y Nutrición en noviembre de 2003, que también indicó que los maíces argentinos tienen en promedio 16% de ácidos grasos saturados, 37% de ácidos monoinsaturados y 47% de ácidos poliinsaturados. También en nuestro país, Eyherávide *et al.* (2005) reportaron la siguiente composición media de ácidos grasos luego de analizar poblaciones y líneas experimentales locales de maíz seleccionadas: ácido palmítico (9,6-12,3%), ácido esteárico (0,9-3,1%), ácido oleico (27,8-54,8%) y ácido linoleico (33,1-70,0%). Los datos más recientes publicados en Argentina corresponden a ILSI Argentina (2014), organismo que reportó el siguiente perfil ácido del aceite de maíz argentino: ácido palmítico (7,94-14,05%), ácido esteárico (1,33-2,66%), ácido oleico (19,4- 40,2%), ácido linoleico (43,1-64,4%) y ácido linolénico (0,71-1,42%).

Efectos ambientales sobre la composición relativa de ácidos grasos

La temperatura es el factor que más afecta al perfil de ácidos grasos del aceite de maíz. Según Zuil (2009) la temperatura media diaria fue el parámetro que mejor se relacionó con la composición ácida del aceite de maíz.

En su estudio, incrementos de la temperatura media diaria produjeron aumentos de la relación oleico / linoleico. El incremento de temperatura media provocó un incremento de 0,62% de ácido oleico por grado centígrado. La temperatura media afecta la composición ácida del aceite al modificar la actividad de las diferentes enzimas que intervienen en el proceso de desaturación y en consecuencia afecta el grado de insaturación de los ácidos grasos del aceite. Cuando se incrementa la temperatura disminuye principalmente la actividad de la enzima oleato desaturasa (ODS Δ^{12}), por lo tanto, se produce un incremento de la proporción de ácido oleico y una disminución en el porcentaje de ácido linoleico en el aceite (Izquierdo *et al.*, 2008). El efecto de la temperatura sobre la cinética del proceso enzimático de desaturación de ácidos grasos del aceite ha sido ampliamente estudiado. Se han sugerido numerosos procesos para explicar la regulación de la temperatura en el proceso de desaturación. Para las enzimas desaturasas se propusieron efectos de regulación a nivel de los mecanismos transcripcionales como postranscripcionales (Goldman *et al.*, 1994). Recientemente se propusieron otros mecanismos de regulación de la actividad de la enzima oleato desaturasa mediante la estabilidad térmica de la enzima y la disponibilidad de oxígeno como sustrato (Borisjuk y Rolletschek, 2009). Las semillas de maíz no fotosintetizan durante el llenado de granos, por lo que no producen oxígeno interno proveniente de la fotosíntesis. Por lo tanto, la concentración de oxígeno interno está muy relacionada con la temperatura, debido a que incrementos de esta aumentan la respiración y disminuye la solubilidad del oxígeno en el citoplasma (Borisjuk y Rolletschek, 2009).

Efectos de los ácidos grasos sobre la salud

Consumir aceites con una elevada proporción de ácido oleico es aconsejable ya que en promedio no debería consumirse más de 11% de ácidos grasos saturados, 6,5% de ácidos poliinsaturados cis y no exceder el 2% de ácidos poliinsaturados trans en la dieta (Lunn, 2007). Los ácidos grasos saturados, a excepción del esteárico (Velasco y Fernández-Martínez, 2002), incrementan los niveles de colesterol, mientras que los ácidos insaturados, como el ácido oleico, disminuyen las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y aumentan las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en varios grados. A su vez, los ácidos linoleico y linolénico son considerados esenciales, por lo que deben ser incorporados al organismo mediante el alimento (Lehninger *et al.*, 1993). El inconveniente de los ácidos poliinsaturados (linoleico y linolénico) es que, durante los procesos de refinado, que requieren temperaturas de 190 °C (Wagner *et al.*, 2000), y del hidrogenado del aceite (Ratnayake *et al.*, 1998), los ácidos grasos con enlaces de configuración cis se transforman en trans. Se presume que los ácidos grasos trans serían perjudiciales para la salud al provocar un perfil lipoproteico desfavorable (Khosla y Hayes, 1996) compatible con un mayor riesgo aterogénico (Hu *et al.*, 1997).

El consumo de ácidos grasos monoinsaturados es importante para la prevención de enfermedades cardiovasculares como por ejemplo las enfermedades de la arteria coronaria. Incrementos en ácidos monoinsaturados provocan la reducción del colesterol total en sangre y el LDL comúnmente llamado "colesterol malo" (Erkkilä *et al.*, 2008). Los ácidos grasos monoinsaturados se asocian con una mejora en el funcionamiento del endotelio en los vasos sanguíneos, reducción del riesgo de embolias y control de la presión arterial. Además de la prevención de enfermedades cardiovasculares, se han asociado a los ácidos monoinsaturados con la mejora de algunos parámetros de la diabetes tipo 2 y la prevención de algunos tipos de cánceres como el de colon y recto, de pecho y de próstata (Lunn, 2007).

La producción de maíz en Argentina

En la última década la exportación de maíz ha demandado aproximadamente el 60% de la producción argentina, y es por lo tanto el principal destino de esta. La producción destinada al mercado interno se distribuye entre las industrias de las molineras y la alimentación animal. Según las estimaciones realizadas por el USDA (2014), las molineras representan un destino minoritario, llevándose entre las dos solo el 8% de la producción del cereal. El uso del maíz grano para alimento de animales alcanza el 38% de la producción. La cadena aviar para la producción de carne es la mayor demandante, seguida por el sector bovino para la producción de carne. Si se incluyen además las demandas de maíz para la producción de huevos en el primer caso y de leche en el segundo, el sector bovino demandó el 18% y el avícola el 17% de la producción. Por último, teniendo en cuenta la demanda para alimento del stock porcino (3%), el consumo total en campos rondaría las 8,9 millones de toneladas de maíz (IERAL, 2011).

Caracterización fenotípica de un panel de líneas endocriadas de maíz desarrolladas por el programa de mejoramiento de maíz del INTA Pergamino

A partir de un panel de líneas elite de maíz desarrolladas por el INTA Pergamino se pretendió determinar la existencia y magnitud de la variabilidad genética y heredabilidad para la composición ácida del aceite para futuros trabajos de mapeo por asociación. Asimismo, se buscó determinar la posible asociación de características diferenciales de la composición de ácidos grasos del grano con el fondo genético de las líneas integrantes del panel. A tal efecto fue necesario contar con información y conocimientos generados por el grupo de trabajo, a saber:

- Técnicas y determinaciones de laboratorio mediante cromatografía gaseosa desarrolladas y puestas a punto por el grupo de trabajo aplicables a pequeños tamaños de muestra (Laboratorio de Alimentos, Suelos y Agua de la EEA Pergamino. Bioquímica MSc. Mabel Percibaldi, Ing. Qco. Dr. Francisco Borrás).

- Líneas desarrolladas que cubrieran un rango importante de composición de ácidos grasos. Para ello fueron incorporadas al panel líneas seleccionadas por el grupo de trabajo con perfil de ácidos grasos modificada, con características de bajos ácidos grasos saturados (ácido palmítico + ácido esteárico) y alto contenido de ácido graso monoinsaturado (ácido oleico) (Grupo Mejoramiento de Maíz. Guillermo Eyhérbide).
- Conocimiento sobre la estructura genética poblacional del panel de líneas, a partir de información molecular (Laboratorio de Biotecnología de la EEA Pergamino. Dra. Sofía Olmos, Ing. Agr. MSc. Carla Delucchi).

El trabajo de fenotipificación a campo fue parte del Trabajo Final de Graduación de Ingeniero Agrónomo del Sr. Manuel Trejo, de la Universidad Nacional del Noroeste de Buenos Aires (UNNOBA) y fue llevado a cabo en la Unidad Integrada UNNOBA-INTA Pergamino. La dirección y la codirección del trabajo fue llevada a cabo por el Dr. Guillermo Eyhérbide y la Bioquímica MSc. Mabel Percibaldi.

Se analizó una colección de 120 líneas endocriadas (tabla 1), desarrolladas por el programa de mejoramiento de la EEA INTA Pergamino, estabilizadas sobre diversos fondos genéticos y previamente caracterizadas a nivel molecular.

El experimento fue sembrado en el vivero de cría de la EEA INTA Pergamino en dos fechas de siembra, siguiendo un diseño en bloques incompletos (α -látice) con tres repeticiones por ensayo durante la campaña 2012/13. La siembra fue mecánica con maquinaria experimental de la EEA Pergamino y se realizó sobre rastrojo de un cultivo de soja. La primera fecha de siembra correspondió al 13 de octubre y la segunda al 5 de noviembre. Durante el desarrollo del material se aplicó riego para asegurar el experimento. Para la obtención de muestras de grano de los genotipos (líneas) evaluados a campo, se polinizaron bajo sobres de papel kraft tres a cinco individuos por parcela, asegurando un buen tamaño de muestra. La cosecha de los experimentos fue realizada en madurez fisiológica y en forma completamente manual. Luego, las espigas se secaron a temperatura ambiente hasta humedad de equilibrio fisiológico.

Toma de muestras de grano:

La composición ácida de los granos varía según la posición del grano en la espiga de maíz (Jellum, 1970). Por ello, la composición ácida se determinó tomando de cada espiga, granos ubicados en la porción media de esta para conformar una muestra compuesta para cada genotipo, repetición y fecha de siembra, y fueron colocadas en sobres correctamente rotulados. La totalidad de las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Calidad de Alimentos, Suelos y Agua de la EEA Pergamino para la determinación del perfil de ácidos grasos mediante cromatografía gaseosa.

Orden	Designación	Orden	Designación	Orden	Designación	Orden	Designación
Línea 1	LP299-2	Línea 31	LP122	Línea 61	LP128	Línea 91	944
Línea 2	LP197	Línea 32	LP122-2	Línea 62	LP661	Línea 92	900
Línea 3	LP223	Línea 33	LP1411	Línea 63	LP178	Línea 93	967
Línea 4	LP304	Línea 34	LP662	Línea 64	LP598	Línea 94	28
Línea 5	LP818	Línea 35	LP611	Línea 65	LP501	Línea 95	34
Línea 6	LP317	Línea 36	LP612	Línea 66	LP2543	Línea 96	41
Línea 7	LP311	Línea 37	LP613	Línea 67	LP923	Línea 97	43
Línea 8	LP59	Línea 38	LP605	Línea 68	LP32	Línea 98	51
Línea 9	LP124	Línea 39	LP1044	Línea 69	L58	Línea 99	L5665
Línea 10	LP29	Línea 40	LP1032	Línea 70	P21	Línea 100	L5632
Línea 11	LP236	Línea 41	LP153	Línea 71	ZN6	Línea 101	L3326
Línea 12	LP212	Línea 42	LP13	Línea 72	P465	Línea 102	L5605
Línea 13	LP214	Línea 43	LP4703	Línea 73	P1338	Línea 103	L327BS13
Línea 14	LP220	Línea 44	LP147	Línea 74	A1	Línea 104	B98
Línea 15	LP221	Línea 45	LP256-R	Línea 75	1004	Línea 105	L1445
Línea 16	LP453	Línea 46	LP2541	Línea 76	1009	Línea 106	B100
Línea 17	LP5708	Línea 47	LP2542	Línea 77	1041	Línea 107	3525
Línea 18	LP125-R	Línea 48	LP562	Línea 78	1050	Línea 108	3556
Línea 19	LP168	Línea 49	LP563	Línea 79	1065	Línea 109	3538
Línea 20	LP509	Línea 50	LP579	Línea 80	1167	Línea 110	3590
Línea 21	LP438	Línea 51	LP2	Línea 81	1224	Línea 111	B73
Línea 22	LP3830	Línea 52	LP869	Línea 82	1293	Línea 112	370-2-NN/5
Línea 23	LP199	Línea 53	LPB2	Línea 83	1307	Línea 113	338-1-NN/5
Línea 24	LP1996	Línea 54	LP179	Línea 84	1334	Línea 114	LP582
Línea 25	LP1513	Línea 55	LP918	Línea 85	1385	Línea 115	LP01001
Línea 26	LP1512	Línea 56	LP917	Línea 86	1532	Línea 116	LP02001
Línea 27	LP521	Línea 57	LP916	Línea 87	1567	Línea 117	LP869
Línea 28	LP126	Línea 58	LP580	Línea 88	1609	Línea 118	LP2542
Línea 29	LP116	Línea 59	LP581	Línea 89	897	Línea 119	LP29
Línea 30	LP561	Línea 60	LP915	Línea 90	943	Línea 120	LP179

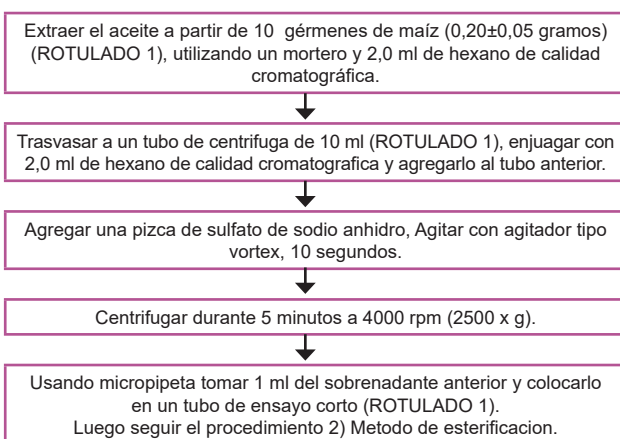
Tabla 1. Líneas experimentales del INTA Pergamino evaluadas.

Procedimiento técnico para la determinación de ácidos grasos por cromatografía gaseosa

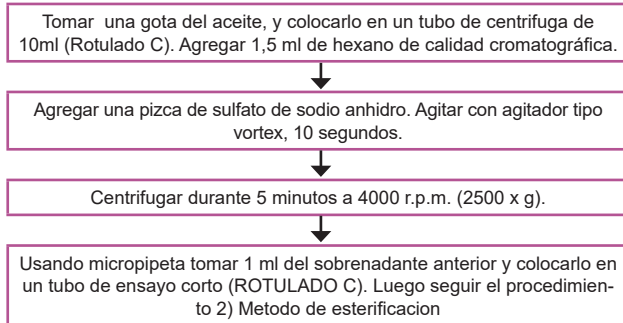
De cada una de las muestras se utilizaron diez granos colectados de la parte central de la espiga y se le extrajo el germen, luego se empleó la metodología descrita por Percibaldi *et al.* (1997). Se utilizó un cromatógrafo gaseoso Clarus 500 Perkin Elmer, equipado con automuestreador, software Totalchrom Workstation v6.3.1 y sistema purificador de gases.

Método de extracción de aceite

Se extrajo el aceite en frío usando hexano y mortero como se describe a continuación:

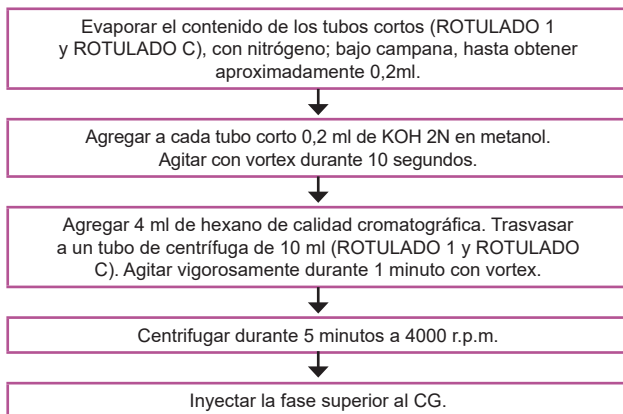


Muestra control: diariamente se esterificó una muestra control, para ello se utilizó aceite de maíz marca Arcor y se procedió de la siguiente manera:



Método de esterificación

Se emplea "transmetilación directa *in situ* con catálisis alcalina" y se procedió como se describe:



Inyección de la muestra al cromatógrafo

Se procedió según manual de procedimiento para uso del cromatógrafo gaseoso Perkin Elmer Clarus 500. Los parámetros utilizados para la determinación cromatográfica se muestran en la tabla 2.

Parámetros	Valores
Temperatura horno - columna	temperatura programada, con rampa de 3 °C/min desde 190 °C hasta 240 °C mantenido durante 1 minuto
Temperatura inyector	240 °C
Temperatura detector	300 °C
Velocidad gas portador	20 cm/segundo
Volumen de inyección	1,0 µl
Tiempo de corrida	16,67 min

Tabla 2. Parámetros utilizados para la corrida cromatográfica.

Cálculos

Mediante pruebas con patrones de ácidos grasos se identifica cada pico del cromatograma según los tiempos de retención característicos de cada ácido graso.

El área bajo la curva se correlaciona con la concentración total de ácidos grasos.

La concentración de cada ácido graso se calcula como porcentaje relativo al total de ácidos grasos.

Análisis estadísticos de los datos

En principio se procuró establecer la normalidad de las variables analizadas mediante la prueba de Shapiro-Wilks, considerando que las variables presentan distribución normal cuando el valor W^* es mayor o igual a 0,85.

Posteriormente se procedió a realizar las estimaciones de los componentes de varianza, que se calcularon en un único proceso iterativo de estimación-predicción, utilizando el método de modelos lineales mixtos (PROC MIXED, del inglés: Mixed Linear Model) del software SAS (SAS Institute, 2007).

Se utilizó el siguiente modelo lineal mixto:

$$y = X\beta + Z_1g + Z_2w + \varepsilon$$

donde y es el vector de las observaciones fenotípicas; β es el vector de los efectos fijos debidos al bloque, sitio y el promedio general; g es el vector de los efectos genotípicos (aleatorios); w es el vector de los efectos de la interacción genotipo x ambiente (aleatorios) y; ε es el vector de los residuales (aleatorios). Las letras mayúsculas representan las matrices de incidencia para los referidos efectos.

La metodología de Máxima Verosimilitud Restringida (REML, del inglés: Restricted Maximum Likelihood) fue la preferida para la estimación de componentes de varianza.

En el método REML, la función de verosimilitud es dividida en dos partes independientes: efectos fijos y aleatorios. Esta metodología implementada en el PROC MIXED de SAS utiliza un algoritmo de Newton-Raphson, iterando hasta dar convergencia a la función objetivo (logaritmo de la verosimilitud) de la parte que no contiene efectos fijos. El procedimiento MIXED utiliza varianzas previamente estimadas para valores iniciales de la convergencia, que son estimadas a través del método del estimador cuadrático no sesgado de varianza mínima (MIVQUE). Las ecuaciones REML para la estimación de componentes de varianza se pueden expresar de la siguiente manera (Mora y Arnhold, 2006) (4):

$$\begin{bmatrix} \text{tr}(V^{-1}Z_1GZ_1^T V^{-1}Z_1GZ_1^T) & \text{tr}(V^{-1}Z_1GZ_1^T V^{-1}Z_2Z_2^T) & \text{tr}(V^{-1}Z_1GZ_1^T V^{-1}) \\ \text{tr}(V^{-1}Z_2WZ_2^T V^{-1}Z_1GZ_1^T) & \text{tr}(V^{-1}Z_2WZ_2^T V^{-1}Z_2Z_2^T) & \text{tr}(V^{-1}Z_2WZ_2^T V^{-1}) \\ \text{tr}(V^{-1}V^{-1}Z_1GZ_1^T) & \text{tr}(V^{-1}V^{-1}Z_2Z_2^T) & r(V^{-1}V^{-1}) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \sigma_g^2 \\ \sigma_w^2 \\ \sigma_\varepsilon^2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} y^T P Z_1 G Z_1^T P Z_1 \\ y^T P Z_2 W Z_2^T P Z_2 \\ y^T P y \end{bmatrix} \quad (4)$$

donde, tr denota la traza de la matriz. P es el proyector ortogonal para la parte aleatoria, G es la matriz de varianzas genotípicas; W es la matriz de varianza de la interacción genotipo x ambiente. σ_g^2 , σ_w^2 y σ_ε^2 son los componentes

de varianza del efecto de las líneas, interacción y residual, respectivamente.

Empleando los modelos mixtos se obtuvieron los predictores BLUP (Best Linear Unbiased Predictor; Mejor predictor lineal insesgado) de cada línea en cada ambiente. Los promedios de BLUP de las líneas fueron utilizados en el análisis de correlación.

Adicionalmente, se estimaron los coeficientes de correlación de Pearson para estudiar el grado de relación existente entre los distintos ácidos grasos contenidos en el grano de maíz de las diferentes líneas evaluadas, para esto se utilizó el procedimiento CORR (SAS Institute, 2007).

La heredabilidad se calculó sobre la base de promedios de genotipos, partir de los componentes de varianza estimados, resultantes del análisis lineal mixto realizado previamente. Fue calculada mediante la siguiente fórmula:

$$h^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_F^2} = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \sigma_A^2 + \sigma_{G \times A/ar}^2 + \sigma_{E/r}^2}$$

donde:

h^2 : Heredabilidad

σ_G^2 : Componente de varianza genética

σ_A^2 : Componente de varianza ambiental

$\sigma_{G \times A}^2$: Componente de varianza de la interacción genotipo x ambiente

σ_E^2 : Componente de varianza del error

a: número de ambientes

r: número de repeticiones dentro de cada ambiente

En la tabla 3 se presentan las estimaciones de los componentes de varianza a través del procedimiento de la máxima verosimilitud restringida (REML) y de la heredabilidad para los diferentes ácidos grasos, considerando un modelo lineal mixto. Los resultados de la prueba de razón de verosimilitud indicaron que el efecto genotípico (líneas) fue estadísticamente significativo ($p < 0,0001$), al igual que la interacción líneas-ambientes ($p < 0,0001$) para los ácidos grasos palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico.

Si bien se encontró interacción con el ambiente, el componente genotípico fue el de mayor contribución a la variabilidad fenotípica. Podemos observar como para el ácido oleico aportó un 92% contra un 3% de la interacción líneas-ambiente. Las heredabilidades para el contenido relativo de ácidos grasos fueron en todos los casos muy elevadas (mayores a 0,95).

La estimación de los componentes de varianza permitió detectar diferencias altamente significativas entre líneas. Estos resultados concuerdan con lo expresado por Lambert (2001) en el sentido de que el genotipo es la principal causa de diferencias en el perfil de ácidos grasos del aceite de maíz.

En la tabla 4 se presentan los porcentajes promedio, los rangos y el desvío estándar encontrados para cada ácido graso.

La mayoría de los ácidos grasos estuvieron asociados significativamente de manera positiva o negativa (tabla 5). Los mayores coeficientes de correlación fueron negativos. Las asociaciones más importantes y altamente significativas fueron obtenidas para los ácidos linoleico-oleico (-), linoleico-esteárico (-) y oleico – esteárico (+), el resto de las asociaciones fueron débiles y no alcanzaron el nivel de significancia estadística.

Las correlaciones más importantes fueron encontradas entre los ácidos grasos de 18 carbonos, esto puede ser atribuido a que estos ácidos comparten una ruta biosintéti-

	Palmítico	Esteárico	Oleico	Linoleico	Linolénico
Líneas	2,58	0,31	74,1	82,1	0,06
Líneas x Ambientes	0,05	0,02	2,45	2,43	0,001
Error Experimental	0,14	0,03	3,9	3,54	0,01
Heredabilidad	0,98	0,95	0,97	0,98	0,98

Tabla 3. Estimaciones de los componentes de varianza para los ácidos grasos evaluados.

	Ácidos grasos				
	Saturados		Monoinsaturados	Poliinsaturados	
	Palmítico	Esteárico	Oleico	Linoleico	Linolénico
Porcentaje Promedio	11,4	1,9	34,2	51,6	0,91
Rango de variabilidad	7,5 a 16,5	0,9 a 5,2	16,9 a 67	19 a 70,6	0,3 a 1,9
Desvío Estándar	1,68	0,61	8,9	9,34	0,26

Tabla 4. Porcentaje promedio, rango de variación y desvío estándar para cada ácido graso.

	Palmitico	Esteárico	Oleico	Linoleico
Esteárico	-0,01ns			
Oleico	0,12ns	0,36**		
Linoleico	-0,28*	-0,39**	-0,98**	
Linolénico	-0,25ns	-0,27*	-0,36*	0,38*

Tabla 5. Correlaciones entre ácidos grasos de las 120 líneas evaluadas, en las tres repeticiones y dos épocas de siembra.

ns = no significativo, * y ** = significativo estadísticamente al 5 y 1%, respectivamente.

ca común de insaturación de orden: ácido esteárico (18:0), ácido oleico (18:1), ácido linoleico (18:2) y linolénico (18:3) (Wassom *et al.*, 2008). El alto nivel de asociación encontrado entre el ácido graso oleico y linoleico fue consistente a los señalados en maíces cultivados en regiones de clima templado (Wassom *et al.*, 2008; Defacio *et al.*, 2007; Pamin *et al.*, 1986). Lo anterior se atribuye a la gran predominancia de ambos ácidos, sobre la composición de los ácidos grasos totales. Los niveles de ácido palmítico estuvieron asociados de manera significativa, pero débil con los ácidos esteárico, oleico y linoleico, lo que puede ser atribuido a la divergencia del ácido palmítico en la ruta metabólica para la síntesis de los ácidos grasos de 18 carbonos (Wassom *et al.*, 2008; Warner y Knowlton, 2007).

En la figura 1 se comparan los contenidos de ácidos grasos obtenidos para las líneas evaluadas en dos fechas de siembra. Se puede observar una relación ácido oleico/linoleico más marcada durante la primera fecha, probablemente explicable por un incremento de la temperatura media diaria durante el periodo de acumulación de aceite en el grano (últimas dos terceras partes del llenado efectivo).

A su vez se puede observar un mayor porcentaje de ácidos grasos saturados (palmítico + esteárico) durante la primera fecha condicionado probablemente por el mismo factor que afectó la relación oleico/linoleico. Con respecto al porcentaje de ácido linolénico no se observaron cambios en su contenido en ambas fechas de siembra.

El valor medio de ácido palmítico hallado en las líneas evaluadas es coincidente con los datos publicados por FAO (2003), Saleem *et al.* (2008) y corresponde a los rangos reportados por Eyhérbide *et al.* (2005) e ILSI Argentina (2014), aunque resultó inferior a los valores informados por la SAGPyA (2001) y ASAGA (2003). En cambio, el contenido medio de ácido esteárico hallado en estas líneas es algo superior al publicado por la SAGPyA (2001) y ASAGA (2003), pero se encuentra dentro de los rangos indicados por Eyhérbide *et al.* (2005) e ILSI Argentina (2014) y coincide con el valor señalado por FAO (2003).

En relación con el ácido oleico, linoleico y linolénico debe decirse que el nivel medio determinado concuerda con la información aportada por SAGPyA, ASAGA e ILSI Argentina. Debe destacarse que el valor medio de ácido oleico hallado en las líneas estuvo 10,1% por encima y el de linoleico 10,3% por debajo de lo referido por Lambert (2001) y reafirma expresiones de Eyhérbide *et al.* (2005) en el sentido de que los materiales argentinos tienen mayor nivel de ácido oleico que otros desarrollados en el medio oeste de EE. UU.

Según el rango de variabilidad, se detectó una alta variabilidad para los ácidos grasos oleico y linoleico. Los rangos observados amplían lo descrito en ILSI, 2014 (oleico 19,4 a 40,2 y linoleico 43,1 a 64,4).

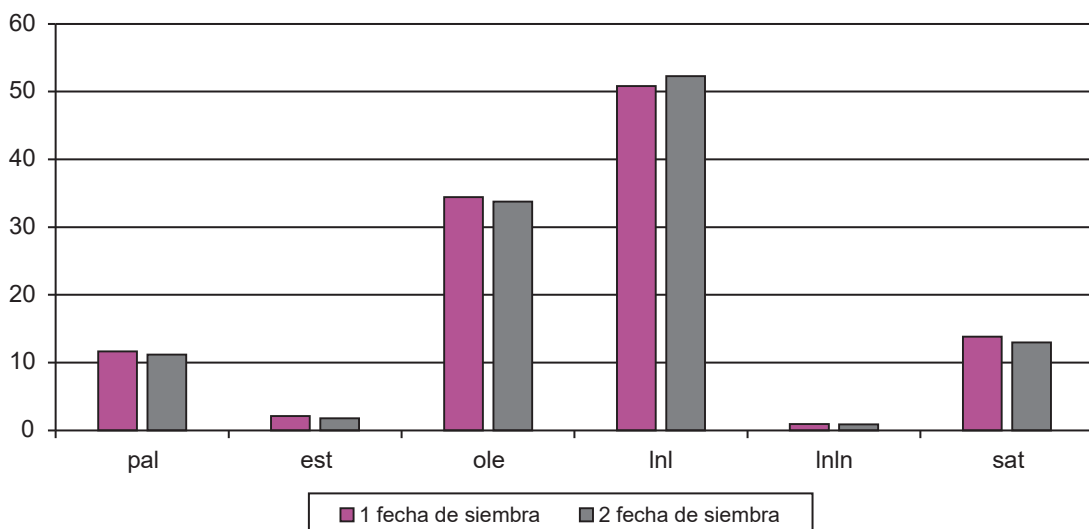


Figura 1. Evolución del contenido de ácidos grasos para las dos fechas de siembra.

Los niveles de ácidos grasos saturados (16:0 + 18:0) e insaturados (18:3) presentaron pocas diferencias entre las líneas y fechas de siembra probadas. Sin embargo, las líneas evaluadas mostraron un mayor nivel de insaturación que los señalados para los aceites en maíces de clima tropical. Las altas temperaturas para las condiciones tropicales, a diferencia de las de climas templados, probablemente afectan negativamente la actividad de las enzimas responsables de la insaturación durante la síntesis de ácidos grasos (Harwood, 1998).

Los niveles promedios de ácido oleico de las líneas superaron ampliamente los niveles típicos de un maíz normal cultivado en clima templado (Shen *et al.*, 1999; Dunlap *et al.*, 1995; Weber *et al.*, 1983), pero fueron inferiores a los indicados para maíces de alto contenido en oleico por Warner y Knowlton, 2007.

Se sabe que la acumulación de aceite en el grano se produce durante las últimas dos terceras partes del llenado efectivo (Dunlap *et al.*, 1995). Por una parte, en nuestro experimento, las temperaturas promedio y los rangos explorados en ese periodo (20-25 días después de floración) para cada fecha de siembra fueron, respectivamente de: 24,0 °C (19,8 a 26,6 °C) para la primera fecha (13 de octubre) y de 20,5 °C (15,5 a 21,2 °C) para la segunda (5 de noviembre). Posiblemente las diferencias observadas entre fechas de siembra en la relación ácido oleico/linoleico podrían ser explicadas por el incremento de la temperatura media diaria que provocó una disminución de los ácidos poliinsaturados, principalmente por una disminución del ácido linoleico, coincidiendo con lo descrito por Zuñil (2009) e Izquierdo *et al.* (2008). Por otra parte, y coincidiendo con los autores anteriores, las variaciones en temperatura media durante el llenado de granos no afectaron el porcentaje de ácido linoléico de ningún genotipo.

En la tabla 6 se muestra el porcentaje promedio y desvío estándar para cada ácido graso, clasificados según grupos heteróticos. Para la clasificación de las líneas en esos grupos heteróticos, se tomó como referencia el trabajo realizado por Olmos *et al.* (2010), en el cual mediante la utilización del programa Structure 2.3.3 (Pritchard *et al.*, 2000) y basándose en el método Bayesiano de inferencia se fijó el número de grupos dentro de la población más probable (k) en 3.

Por una parte, teniendo en cuenta la clasificación de los ácidos grasos según los grupos heteróticos pudo detectarse una alta diversidad entre grupos, y una clara diferencia entre el germoplasma de origen argentino y el ameri-

cano según el contenido de ácido oleico, reafirmando lo descrito por Lambert (2001) y Eyhérbide *et al.* (2005) con respecto al mayor contenido de oleico de materiales argentinos comparados con los americanos. Además, se puede identificar el grupo heterótico más prometedor con respecto al contenido de ácido oleico que es el Argentino Caribeño dentro del cual se destacan las líneas L3525, L3538 y L3590 desarrolladas por selección para contenido de ácido oleico superior al 60%. Por otra parte, el grupo SSS, que tuvo origen a partir de los compuestos BS13 y BSSS provenientes de Iowa, presentó el mayor grado de insaturación debido a la gran proporción de linoleico y linoléico comparados con los demás grupos.

El aceite de maíz tiene alta demanda debido a su efecto positivo sobre la salud por parte del ácido linoleico (polinsaturado), no obstante, una alta concentración de este ácido le confiere inestabilidad al aceite, produciendo una rápida oxidación cuando se emplea para freír alimentos (Orthofer *et al.*, 2003). Los aceites con un contenido superior de ácido oleico (ω -9), como los encontrados en nuestro estudio, son recomendados para preparar frituras alimenticias, debido a que resultan más termoestables que el resto de los aceites de maíz (Frankel, 2014; Gunstone, 2001).

Los ácidos grasos linoleico (ω -6) y linoléico (ω -3) no son sintetizados por el cuerpo humano y por lo tanto resulta esencial incorporarlos a través de la dieta. Para un correcto funcionamiento del organismo es necesario que exista una relación adecuada entre los ácidos linoleico y linoléico. A pesar de que se recomienda que la relación ω -6/ ω -3 se encuentre en el rango de 4:1, en maíz y otros aceites vegetales de importancia vegetal esta relación está muy desequilibrada (10:1, o más) por el alto contenido de ácido linoleico (Olivera Carrión, 2006). Esta relación de ácidos grasos poliinsaturados tan desequilibrada puede derivar en enfermedad coronaria, diabetes, o depresión en caso de consumir únicamente aceite de maíz, por lo que se recomienda alimentarse con una dieta variada.

La relación normal entre ácidos grasos insaturados y saturados del aceite de maíz tiene un valor medio de 6,7 (Depetris y Santini, 2006). El perfil de ácidos grasos de las líneas estudiadas indica una relación de equilibrio entre grasas saturadas e insaturadas (media= 6,6; rango= 4,4-10,1), por lo que la relación entre ácidos grasos saturados e insaturados de estos materiales prácticamente coincide con el valor normal publicado para la especie.

Grupo Heterótico	Palmítico	Esteárico	Oleico	Linoleico	Linoléico
SSS	10,54 \pm 0,001	1,92 \pm 3x10 ⁻⁴	28,18 \pm 0,04	58,31 \pm 0,04	1,14 \pm 1x10 ⁻⁴
P465	11,48 \pm 0,002	1,96 \pm 3x10 ⁻⁴	33,13 \pm 0,05	53,71 \pm 0,04	0,73 \pm 1x10 ⁻⁴
Argentino Caribeño	12,00 \pm 0,001	1,97 \pm 1x10 ⁻⁴	38,21 \pm 0,02	46,93 \pm 0,01	0,91 \pm 3x10 ⁻⁵
Mixto	11,24 \pm 5x10 ⁻⁴	2,02 \pm 1x10 ⁻⁴	33,23 \pm 0,01	52,54 \pm 0,01	0,90 \pm 2x10 ⁻⁵

Tabla 6. Porcentaje promedio y desvío estándar para cada ácido graso, clasificados según grupos heteróticos.

El estudio de caracterización fenotípica de la colección de líneas y el posterior análisis de los componentes de varianza estimados permitió concluir que el componente genotípico fue el que contribuyó con la mayor parte a la variabilidad fenotípica. Los análisis permitieron detectar la existencia de tres líneas estabilizadas que se caracterizan por tener una concentración de ácido oleico superior al 60% como la L3525 (65,57±8,9%), L3538 (62,55±8,9%) y L3590 (62,51±8,9%) y por ende podrían ser empleadas para desarrollar combinaciones híbridas caracterizadas por el nivel de este componente o bien incorporar el carácter alto oleico a otros materiales. Mediante estos estudios de cromatografía gaseosa se pudo establecer la composición de ácidos grasos de las líneas experimentales del INTA Pergamino y se demostró que los ácidos grasos más importantes para la nutrición humana se encuentran dentro del rango de valores reportados a nivel global y nacional.

Por una parte, las altas heredabilidades encontradas nos permiten indicar una elevada confiabilidad del fenotipo llevado a cabo en este estudio para la búsqueda de asociaciones con marcadores moleculares y posterior utilización de estos conocimientos en el desarrollo de aceites de calidad diferenciada. Por otra parte, puede ser conocimiento como objeto de futuros estudios, establecer la magnitud de los efectos de las temperaturas ambientales sobre las enzimas involucradas en la síntesis de ácidos grasos, ya que si se difiere la fecha de siembra podemos afectar la relación ácido oleico / linoleico. Tal información resultaría relevante para orientar pautas de manejo del cultivo de maíz de calidad diferenciada para alto oleico.

Desarrollo y mejoramiento de poblaciones de maíz con composición de ácidos grasos diferenciada

En trabajos previos, el INTA realizó una caracterización preliminar de líneas endocriadas de maíz propias y otras desarrolladas por universidades de los EE. UU. Se encontró que, en general, los materiales argentinos poseían contenidos relativos de ácido oleico por encima de los que exhibían materiales del medio oeste de EE. UU. Entre las líneas locales se identificaron algunas con contenidos de ácido oleico en el rango de 45 a 50%, aproximadamente. Posteriores trabajos permitieron demostrar que el nivel de ácido oleico en los híbridos resultantes de cruzamientos entre líneas que diferían en su contenido de ácido oleico resultaba intermedio al de sus líneas progenitoras, indicando un control aditivo del carácter (Hourquescos *et al.*, 2001) y la posibilidad de su mejoramiento mediante selección recurrente. Posteriormente se generaron tres sintéticas, las cuales fueron sometidas a selección recurrente fenotípica para modificar el perfil de ácidos grasos en el germen (Eyhérbide *et al.*, 2005). En el vivero de cría de la EEA INTA Pergamino, en la campaña 99/00 se generaron familias S1 a partir de las generaciones F₂ de dos híbridos simples entre pares de líneas caracterizadas por poseer un contenido relativo de ácido oleico entre 45 y 50%, así como también de la F₂ de su híbrido doble. De cada espiga S1 se tomó una muestra de diez semillas para determinar en el laboratorio la composición relativa de ácidos grasos.

Del total de familias analizadas, se seleccionaron y posteriormente se recombinaron 26 (promedio de oleico 53,9%) para generar la población SPAO1 (C0). Esta población fue sometida a tres ciclos de selección recurrente fenotípica intrapoblacional, similar a la realizada por Sprague y Brimhall (1950), citado por Hallauer y Miranda (1988) para modificar la composición de ácidos grasos en el aceite. Cada ciclo de selección recurrente requirió sembrar una muestra de aproximadamente 1000 individuos, de los cuales 150 fueron autofecundados en cada ciclo. Finalmente se cosecharon espigas con grano S₁ sobre los 100 individuos que mostraban mejores características agronómicas. En laboratorio se determinó la composición de ácidos grasos sobre muestras de diez semillas extraídas de la porción central de cada espiga S₁. Posteriormente se realizó selección por truncamiento del 10% de las familias que mostraban la composición de ácidos grasos más conveniente para los objetivos de selección buscados. El contenido relativo de ácidos grasos para las muestras de grano S₁ de individuos correspondientes al ciclo 0 de las poblaciones correspondió a genotipos cultivados en el vivero de invierno en la provincia de Formosa. En los otros casos, las evaluaciones se efectuaron sobre muestras cultivadas en el vivero de verano de Pergamino, junto con muestras de una línea de alto oleico que intervino en el origen de las poblaciones.

Para determinar la composición ácida de cada una de las muestras se utilizaron diez granos colectados de la parte central de la espiga, y se empleó la metodología descrita por Percibaldi *et al.* (1997). A fin de evaluar la respuesta a la selección se compararon los promedios de composición relativa de ácidos grasos de los granos de espigas S₁ en tres ciclos consecutivos de selección (C1 vs. C0, C2 vs. C1 y C3 vs. C2). Para conocer el efecto del ambiente sobre la composición de ácidos grasos en muestras de grano provenientes de distintas estaciones de cultivo, se tuvo en consideración las diferencias entre los promedios de las semillas de espigas S0:1 de cada ciclo y los de las líneas de alto oleico utilizada como testigo, bajo las mismas condiciones de ambiente. A juzgar por el comportamiento relativamente estable de la línea testigo a través de ambientes puede pensarse que el efecto confundido del ambiente sobre la media de familias evaluadas en diferentes ambientes no sería importante. No obstante, la comparación entre las medias observadas de porcentaje de ácidos grasos para las familias representativas de los ciclos 0, 1 y 2 de cada población mediante prueba t' (Steely Torrie, 1980), asumiendo varianzas desconocidas y distintas, debe considerarse aproximada.

Los resultados obtenidos por Orcellet *et al.* (2007) desde la síntesis de las poblaciones hasta el segundo ciclo de selección recurrente sugieren que el método de selección fue efectivo para mejorar (aumentar) especialmente el porcentaje de ácido oleico (o disminuir el de ácido linoleico) en el aceite de maíz, lográndose una respuesta hasta ahora consistente entre ciclos de selección en las poblaciones SPAO1 y SPAO2. Se informan aquí los resultados de la evaluación hasta el ciclo 3 de selección recurrente en SPAO1.

En la tabla 7 se presentan los porcentajes de ácidos grasos promedios (oleico y linoleico) de familias provenientes

de los ciclos de selección de cada población. Se detectaron diferencias significativas entre ciclos consecutivos para contenido relativo de ácido oleico. El promedio de familias de SPAO1 (C3) llegó al 63,8% de ácido oleico (16,2% más que la población de partida SPAO1 (C0)) y 22,3% de linoleico (18% menos que SPAO1 (C0)). Los niveles de ácido oleico de la línea control LP199 fueron similares entre años.

La figura 2 presenta la distribución de porcentajes de ácido oleico y linoleico de las familias tomadas en consideración para generar la población SPAO1, las de SPAO1(C0), SPAO1(C1), SPAO1(C2) y SPAO1(C3). Del análisis de esta se observa linealidad en la respuesta y cierta disminución en esta entre los ciclos 2 y 3. Se destaca la existencia de líneas segregantes que superan el 70% de ácido oleico. No obstante las líneas de mayor contenido de ácido oleico de C3 no logran exceder a las del C2.

Por una parte, la figura 3 muestra la evolución de la media general para contenido de ácido oleico en los diferentes ciclos de SPAO1 y la de la variancia fenotípica entre individuos dentro de cada ciclo. La disminución de la variancia observada es consistente con lo encontrado a nivel molecular por Orcellet *et al.* (2007) quienes detectaron un aumento en la frecuencia de homocigotas. Por otra parte, el número de familias seleccionadas fue n=10, por lo que se espera que la tasa de endocria luego de cuatro oportunidades de recombinación haya aumentado.

A partir de los resultados de respuesta total obtenida y diferencial de selección acumulado (tabla 8), la estimación de heredabilidad realizada es de 0,63 sobre la base de plan-

tas individuales. Se concluyó que el método de selección adoptado resultó eficiente para elevar el contenido de ácido oleico. La posterior endocria de los individuos seleccionados de C3 está permitiendo la detección de líneas parcialmente endocriadas con porcentajes de oleico superiores al 70% (Percibaldi, comunicación personal, 2010). Varias líneas estabilizadas procedentes de esta población están en etapa final de descripción para su registro en el régimen de propiedad de obtenciones vegetales de Argentina.

Estudios moleculares en relación con la composición relativa de ácidos grasos en maíz

El grupo de trabajo llevó a cabo tres estudios a nivel molecular. El primero consistió en la búsqueda de marcadores moleculares asociados a la modificación en el contenido de ácidos grasos a partir de poblaciones biparentales producto del cruzamiento de dos líneas contrastantes en el contenido de ácidos grasos. El progenitor de alto oleico fue una línea desarrollada por el grupo de trabajo (Dr. Guillermo Eyherabide) Estos estudios fueron llevados a cabo por las Ings. Agrs. MSc. Carla Delucchi y Ana Rosa Schlatter. Un segundo estudio fue llevado a cabo por la Lic. en Biotecnología Laura Orcellet, como su tesis de grado de la Universidad Nacional de Rosario, bajo la dirección de la Ing. Agr. MSc. Ana Rosa Schlatter. El objetivo fue determinar cambios en la frecuencia de marcadores entre ciclos de selección recurrente de una población de maíz seleccionada en forma recurrente para incremento del porcentaje relativo de ácido oleico. El tercer estudio fue realizado por la Srta. Guillermina Ruiz bajo la dirección de la Ing. Agr. Carla Delucchi como su trabajo final de grado de Licenciatura en Genética de la Universidad Nacional del Noroeste de Buenos Aires. Asimismo se contó con los aportes de la Dra. Sofía Olmos.

Búsqueda y validación de QTLs detectados para composición relativa de ácidos grasos en maíz

El principal QTL que controla la relación entre ácido oleico (18:1) y ácido linoleico (18:2) se localizó en el cromosoma 6 ligado al marcador RFLP umc65. A su vez, el gen In1, un gen recesivo al cual se le había adjudicado la función de controlar la relación entre los niveles de 18:1 y 18:2, está muy ligado al marcador umc65.

En el Laboratorio de Biotecnología de la EEA Pergamino se evaluaron las líneas parentales de una población

Ácido graso	Porcentaje de ácidos grasos por ciclo de selección ^ξ			
	C0	C1	C2	C3
Oleico	47,6	56,1	63,2	63,8
Linoleico	40,5	31,7	24,4	22,3

Tabla 7. Promedio de contenidos relativos (%) de oleico y linoleico de semillas S0:1 extraídas de individuos de los ciclos originales (C0), primer ciclo de selección (C1), segundo ciclo de selección (C2) y tercer ciclo de selección (C3) para una sintética de maíz seleccionada por alto contenido de oleico (SPAO1).

^ξ Para SPAO1 las diferencias C1-C0, C2-C1 y C3-C2 resultaron significativas (p<0,01) para contenido de ácido oleico.

Ciclos de selección	Respuesta parcial	Respuesta acumulada	Diferencial de selección	Diferencial de selección acumulado
C1 – C0	6,5		7,41	
C2 – C1	7,1		7,85	
C3 – C2	0,6		7,1	
C3 – C0		14,2		22,36

Tabla 8. Respuestas y diferenciales de selección parciales y acumulados desde C0 a C3, medidos en porcentaje de ácido oleico en la población SPAO1.

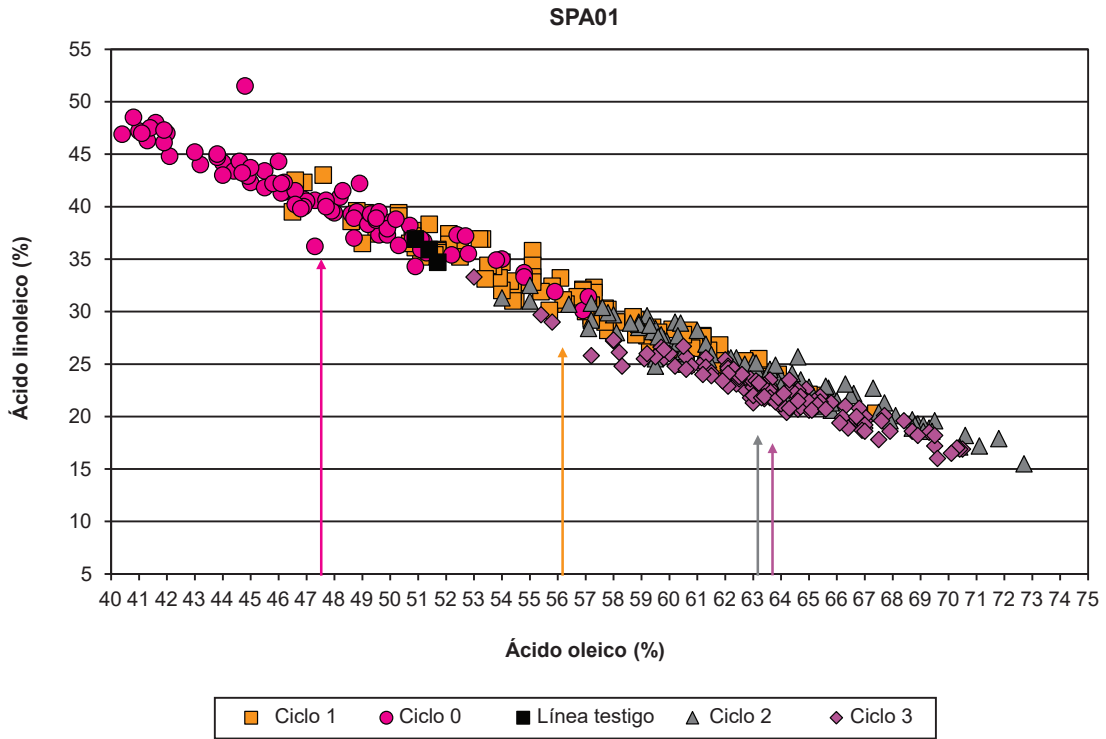


Figura 2. Distribución de porcentajes de ácido oleico y linoleico de las familias tomadas en consideración para generar la población SPAO1, las de SPAO1(C0), SPAO1(C1), SPAO1(C2), SPAO1(C3) y de dos líneas testigo de alto oleico utilizadas en la generación de las sintéticas.

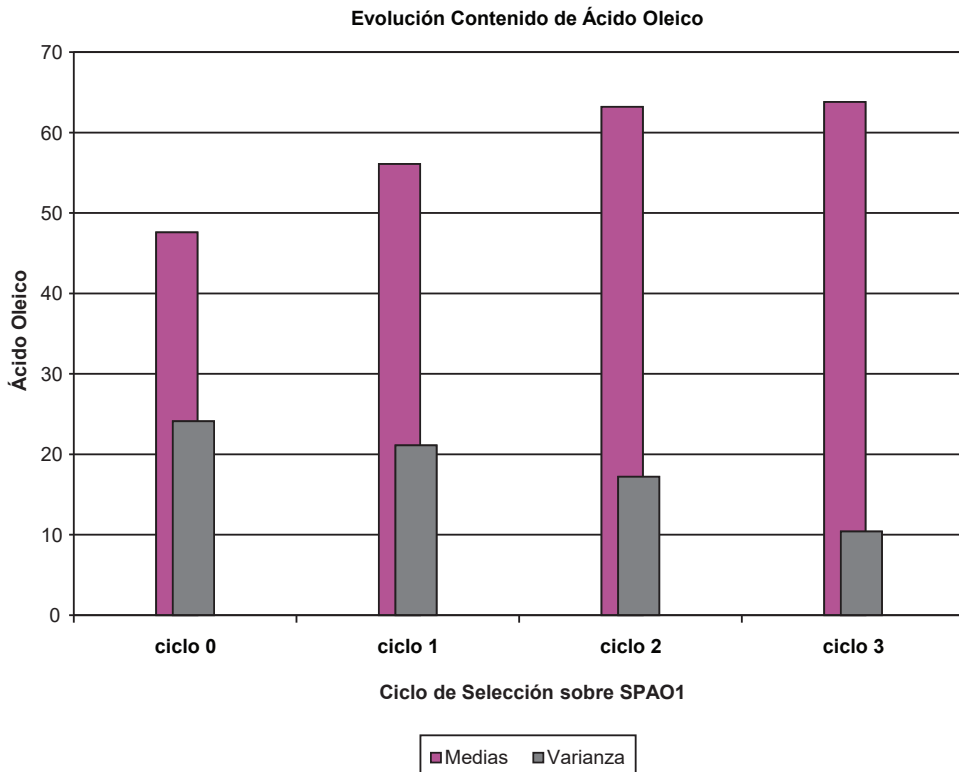


Figura 3. Evolución de la media general para contenido de ácido oleico en los diferentes ciclos de SPAO1 y la de la varianza fenotípica entre individuos dentro de cada ciclo.

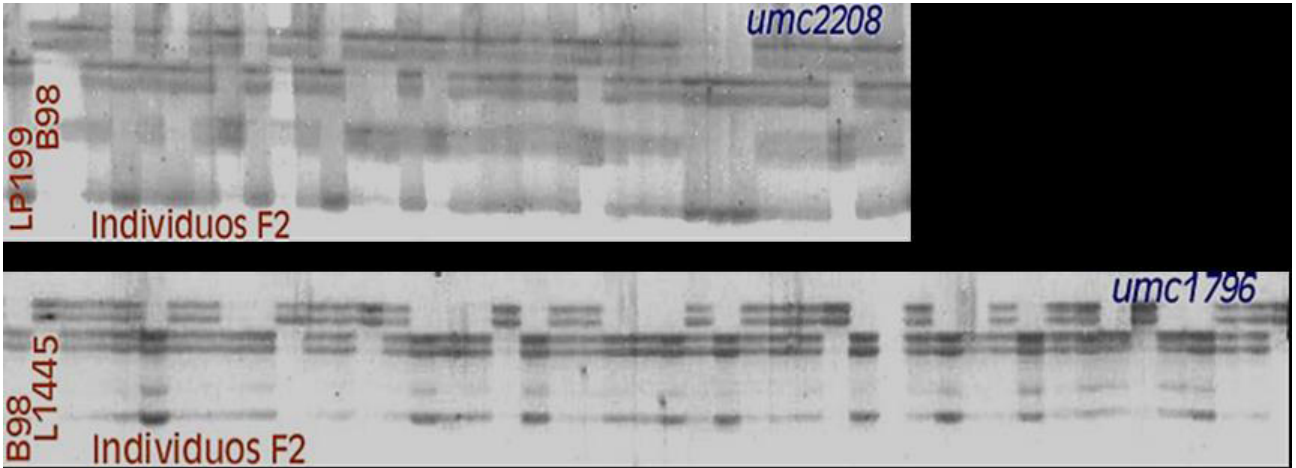


Figura 4. Microsatélites polimórficos entre las líneas parentales, utilizados para caracterizar las poblaciones F_2 , derivadas de los cruza- mientos LP199 (alto oleico) x B98 (bajo oleico), y L1445 (alto oleico) x B98 respectivamente.

de mapeo F_2 , derivada del cruzamiento LP199 (alto oleico, aproximadamente 50%) x B98 (bajo oleico). Se ana- lizaron mediante 145 microsatélites públicos ubicados en los cromosomas relacionados con el contenido de ácidos grasos, según bibliografía, de los cuales 52 microsatélites resultaron polimórficos. Se caracterizaron 196 individuos de la población F_2 proveniente de LP199 x B98, con los 52 marcadores microsatélites polimórficos. A su vez, en sus

progenies F_3 se determinó el contenido de ácidos grasos mediante cromatografía gaseosa, y utilizando el programa Mapmaker 3.0 se encontraron 3 QTLs en el cromosoma 6 (Schlatter, comunicación personal).

Con el objetivo de validar los QTLs detectados previa- mente en la EEA Pergamino para composición relativa de ácidos grasos en maíz, se efectuó un mapeo de alta densi- dad de poblaciones seleccionadas para el carácter.

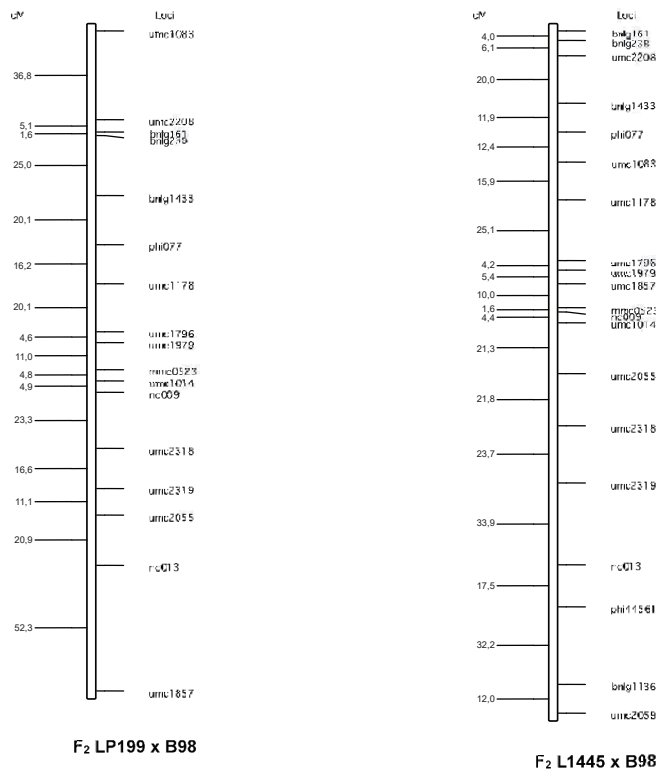


Figura 5. Mapas de ligamiento del cromosoma 6 a partir del genotipo de dos poblaciones de mapeo F_2 , derivadas de LP199 x B98 y L1445 x B98 respectivamente ($LOD_{min}=3$, $r_{max}=0,3$).

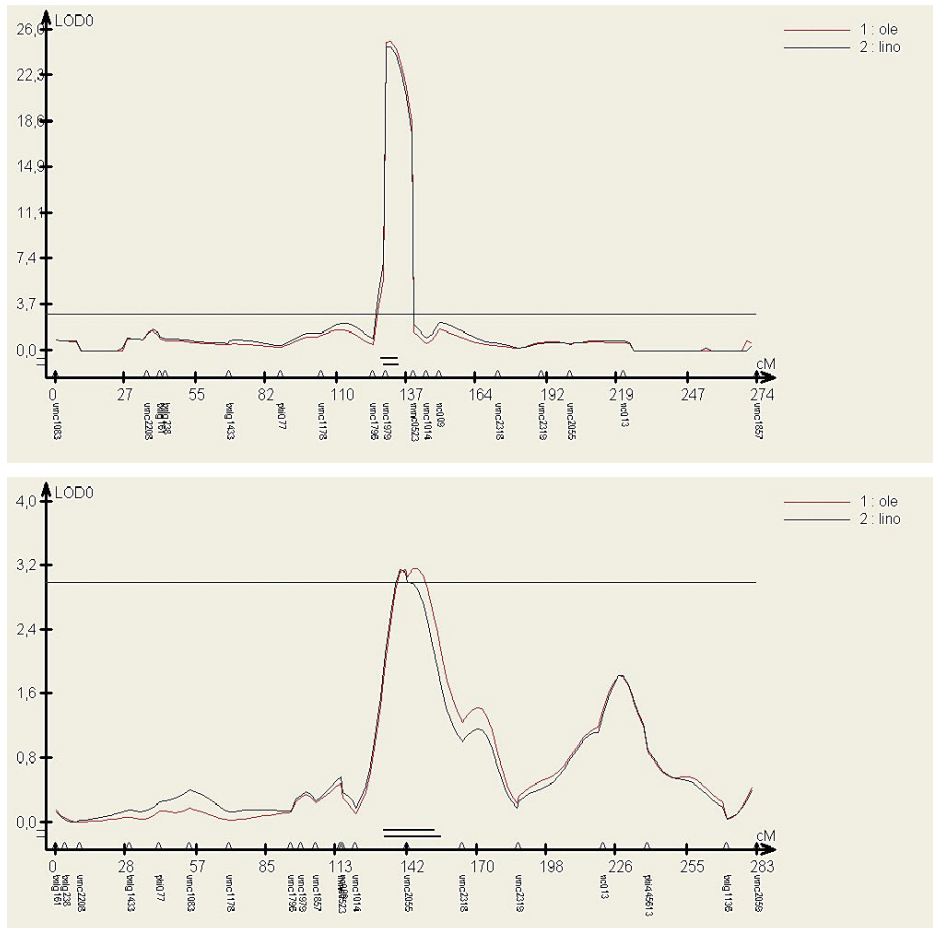


Figura 6. QTLs detectados en las dos poblaciones de mapeo F_2 , derivadas de LP199 x B98 y de L1445 x B98, mediante mapeo por intervalo compuesto ($\text{LOD} \geq 3$).

Se llevó a cabo la saturación de marcadores microsatélites (SSRs) sobre las regiones detectadas *a priori* como eventuales QTLs en el cromosoma 6, en dos poblaciones de mapeo F_2 , derivadas de los cruzamientos LP199 (alto oleico) x B98 (bajo oleico), y L1445 (alto oleico) x B98 respectivamente. Para ello se evaluaron las líneas parentales mediante 43 microsatélites públicos ubicados en el cromosoma 6, de los cuales 19 resultaron polimórficos para la población F_2 proveniente de LP199 x B98, y 20 para la población F_2 derivada de L1445 x B98. Estos están localizados en distintas regiones del cromosoma 6: bnlgl61, bnlgl238, umc2208 (bin 6,00), bnlgl433, phi077 (bin 6,01), umc1083, umc1178 (bin 6,02), mmc0523, nc009, umc1014, umc1796, umc1857, umc1979 (bin 6,04), umc2055 (bin 6,04-6,05), umc2318, umc2319, nc013, phi445613 —polimórfico solamente para la población F_2 derivada de L1445 x B98— (bin 6,05), bnlgl1136 (bin 6,07), umc2059 (bin 6,09). “Bin” se refiere a un segmento correspondiente a un intervalo de mapeo de aproximadamente 20 centimorgans. La nomenclatura consiste en un número entero (par cromosómico) seguido por dos decimales. Se utilizaron los microsatélites polimórficos para determinar el genotipo de cada

una de las poblaciones F_2 (196 y 186 individuos respectivamente, figura 4). En sus progenies F_3 se determinó el contenido de ácidos grasos mediante cromatografía gaseosa, según las técnicas de muestreo y analíticas descritas por Percibaldi *et al.* (1997).

A partir de la información molecular, se construyeron mapas de ligamiento utilizando el programa MapDisto version 1.7.5 (figura 5), y se realizó el análisis de asociación con los datos fenotípicos empleando el programa WinQTLCartographer V2.5, mediante mapeo por intervalo compuesto en las dos poblaciones. Se detectaron dos QTLs para contenido diferencial de ácido oleico y linoleico en los bins 6,04 y 6,05, uno ligado al marcador umc1979 y otro ligado a umc2055 (figura 6). El primero confirmó uno de los QTLs hallados anteriormente, y el segundo indicaría un nuevo QTL detectado relacionado con la composición relativa de ácidos grasos en maíz.

La saturación con microsatélites permitió la validación de un QTL identificado anteriormente en la población F_2 proveniente de LP199 x B98 con menos cantidad de microsatélites, y el hallazgo de un nuevo QTL para composición diferencial de ácidos grasos en el aceite de maíz.

Los resultados obtenidos en genotipos desarrollados por el INTA permiten disponer de marcadores ligados a QTLs para contenido relativo de ácido oleico, los cuales podrán ser empleados en futuros programas de selección asistida para el carácter.

Evaluación del cambio de la estructura genética en una población de maíz sometida a selección recurrente mediante microsatélites

Existen antecedentes en el país respecto del progreso obtenible por selección por perfil de composición de ácidos grasos (Eyhérbide *et al.*, 2005), habiendo sido factible llegar a niveles de 18:1 que duplican los del aceite de maíz que se comercializa en Argentina. En la Estación Experimental Agropecuaria Pergamino del INTA a partir del cruzamiento entre cuatro líneas con contenidos relativos de ácido oleico entre 45 y 50% se generó, entre otras, la población SPAO1, que posteriormente se mejoró mediante selección recurrente fenotípica para el carácter alto contenido de ácido oleico. En el segundo ciclo de selección se llegó a un promedio de 64% de ácido oleico. La elevada magnitud de la respuesta a la selección y el aparente agotamiento de la respuesta en el término de tres a cuatro ciclos de selección sugieren un control eminentemente aditivo del carácter, al mismo tiempo que el control de este no dependería de un número importante de genes o factores efectivos. En este estudio se analizaron tres ciclos de la población SPAO1 (C0, C1 y C2).

Para realizar la caracterización molecular o genotípica, se analizaron 5 individuos de cada línea parental (LP125R, L58, LP199 y LP1512), 20 individuos en total, y 30 individuos de cada población mejorada C0, C1 y C2.

La extracción de ADN genómico se realizó a partir de material fresco de hojas de plántulas y se llevó a cabo según el protocolo de Kleinhofs *et al.* (1993). La cuantificación y el control de la integridad del ADN extraído, se determinó visualmente y en comparación a muestras de ADN de concentración conocida. Para ello, el ADN se sembró en gels

de agarosa al 0,8% con bromuro de etidio ($0,1\mu\text{g}\ \mu\text{l}^{-1}$) y se visualizaron en un transiluminador de luz UV.

Se realizó la caracterización molecular analizando 66 microsatélites públicos en las líneas parentales y seleccionando los que presentaban las mejores características para utilizarlos en el análisis de las poblaciones. Se eligieron y probaron en las poblaciones entre dos y cuatro microsatélites por cromosoma, en total se evaluaron 23 microsatélites. Las secuencias de los cebadores (primers) se encuentran publicadas en MaizeGDB (<http://www.maizegdb.org>) y se enviaron a sintetizar al laboratorio Alpha DNA (<http://www.alphadna.com>).

Las reacciones de amplificación (PCR) se llevaron a cabo en placas de 96 pocillos en un termociclador PTC-100 (MJ Research, Inc. Watertown, MA), programado con una temperatura inicial de desnaturalización de $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 min. Las condiciones de los ciclos fueron las siguientes: desnaturalización a $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 segundos y elongación a $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 segundos. Las temperaturas de hibridación se programaron con un gradiente de temperatura comenzando a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ y finalizando a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ después de 15 ciclos. En los 35 ciclos remanentes la temperatura de hibridación fue de $55\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 30 segundos cada ciclo. La etapa final de elongación fue de $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 10 minutos. Esta técnica, conocida como "Touchdown" o Amplificación con rampa decreciente de temperaturas, se basa en comenzar la reacción de PCR a temperaturas altas, evitando así amplificaciones inespecíficas, para ir disminuyéndola progresivamente una vez copiadas las primeras secuencias diana. Las muestras se amplificaron en un volumen de reacción de $13\ \mu\text{l}$. Cada reacción contenía $200\ \mu\text{M}$ de dNTPs, $1,5\ \text{mM}$ de Mg^{++} , $250\ \text{nM}$ de cada oligonucleótido (primer o cebador), $0,5\ \text{U}$ de Taq-polimerasa, y $30\ \text{ng}$ de ADN templado.

Los productos de amplificación fueron separados mediante electroforesis vertical en cubas de secuenciación en gels desnaturalizantes de poli(acrilamida 6% (19:1 acrilamida:bisacrilamida) con separadores de $0,4\ \text{mm}$, a $55\ \text{Watts}$ durante 1 hora, y se detectaron mediante tinción con nitrato de plata, de acuerdo al protocolo de tinción con

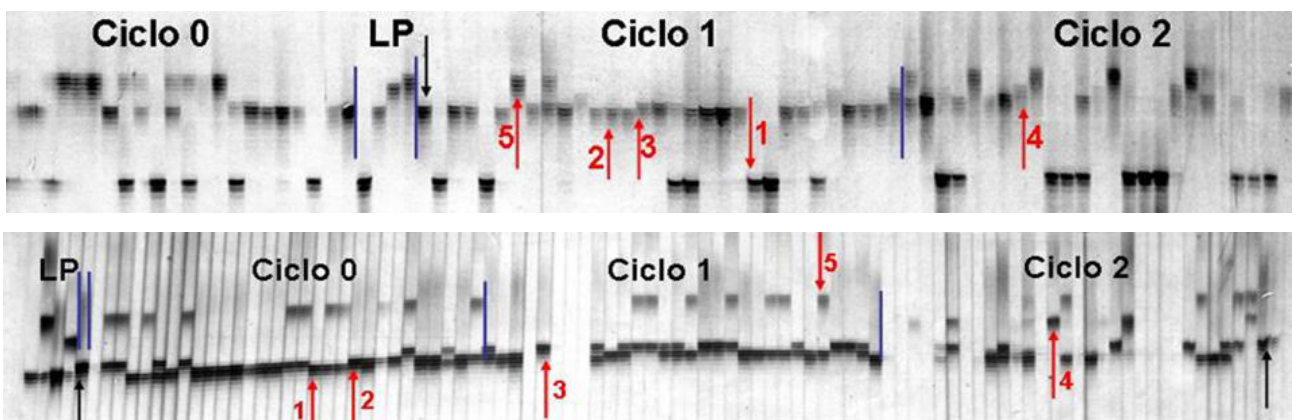


Figura 7. Loci bnlg1823 (arriba) y bnlg1325 (abajo) utilizados para caracterizar las tres poblaciones mejoradas, C0, C1 y C2. LP: alelos presentes en las líneas parentales, LP125R, L58, LP199 y LP1512. Las flechas indican los alelos identificados.

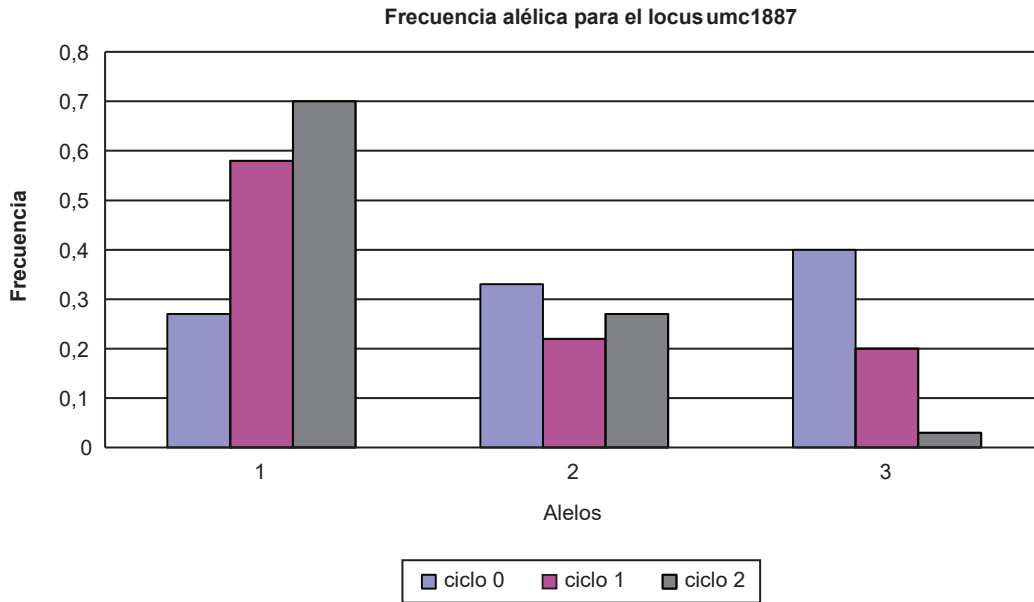


Figura 8. Distribución de frecuencias para cada uno de los tres alelos encontrados en el locus umc1887. Se puede observar claramente el aumento de la frecuencia del alelo uno y la reducción en la frecuencia del alelo tres luego de cada ciclo de selección.

plata para secuenciación de Promega Corp. Los resultados se evaluaron manualmente, colocando los vidrios sobre un transiluminador de luz blanca. Para determinar el tamaño de los fragmentos amplificados se utilizaron como estándares marcadores de tamaño molecular de 25 pb de ADN, Step Ladder DNA (Invitrogen®, Carlsbad, CA) y los productos de amplificación de diferentes tamaños fueron considerados como diferentes alelos. Para el cálculo de los tamaños se utilizó la forma local del algoritmo de los recíprocos (Elder y Southern, 1987). Este método utiliza una regresión hiperbólica para interpolar el tamaño empleando una ecuación unificada con los datos de los estándares.

Los cebadores para los 23 loci analizados generaron productos de amplificación en las tres poblaciones en estudio. Se identificaron en total 69 alelos (promedio de tres alelos por locus), que variaron en número por microsatélite desde dos hasta cinco alelos por locus (figura 7). Los tamaños de los alelos comprendieron un rango entre 111 pb y 337 pb.

A fin de realizar el análisis estadístico de los datos se construyó una matriz binaria a partir de las frecuencias absolutas obtenidas en el análisis de las poblaciones, donde cada fila representa un individuo y las columnas representan los loci analizados. Se calcularon las frecuencias alélicas utilizando el programa Tools for Population Genetic Analyses (TFPGA, Miller, 1997; figura 8). Se estimó el nivel de polimorfismo mediante el cálculo del contenido de información polimórfica (PIC) de los marcadores. El PIC se obtuvo empleando la fórmula mencionada por Anderson *et al.* (1993), y se calculó para cada locus por ciclo y valores promedio por locus y por ciclo. Los valores de PIC variaron desde 0 hasta 0,74 por microsatélite, con un promedio ge-

neral de 0,5. Se observó una reducción en el valor de PIC promedio al pasar del primer ciclo de selección al siguiente de 0,56 a 0,46, que también se evidenció en el aumento de la proporción de individuos homocigotas, de 64,7% a 69,3%, al pasar del primer ciclo de selección al segundo.

Se calculó la diferenciación interpoblacional existente a través de las diferencias observadas en las frecuencias alélicas y genotípicas. Para esto se utilizó la Prueba Exacta de Raymond y Rousset (Exact test for population differentiation; Raymond y Rousset, 1995) que incorpora el procedimiento de cadena de Markov. Este método es más adecuado para el análisis de loci multialélicos que un análisis χ^2 convencional (Rossini Pinto *et al.*, 2003). La prueba exacta arrojó valores de χ^2 que permitieron concluir que se produjo un cambio altamente significativo ($p < 0,001$) en la estructura genética, que podría atribuirse al proceso de selección.

Los valores de p obtenidos mediante la Prueba Exacta fueron analizados con el fin de detectar loci en los que se hayan producido variaciones significativas en las frecuencias alélicas a lo largo de los ciclos de selección y proponer una asociación entre las ubicaciones cromosómicas encontradas y el criterio utilizado en el método de selección. Se encontraron 8 loci con cambios altamente significativos ($p < 0,001$) en las frecuencias alélicas entre los ciclos C0 y C2: phi402893 (2,00), phi96100 (2,01), bnlg2248 (2,03), phi029 (3,04), phi021 (4,03), phi113 (5,03-5,04), bnlg1823 (8,07) y umc1366 (9,06). Los siguientes loci presentaron cambios muy significativos ($p < 0,01$): bnlg1325 (3,03) y phi389203 (6,03). Por último, los loci umc1887 (6,03-6,04), phi034 (7,02) y phi068 (9,01) sufrieron cambios significativos ($p < 0,05$) en las frecuencias alélicas entre los ciclos C0 y C2.

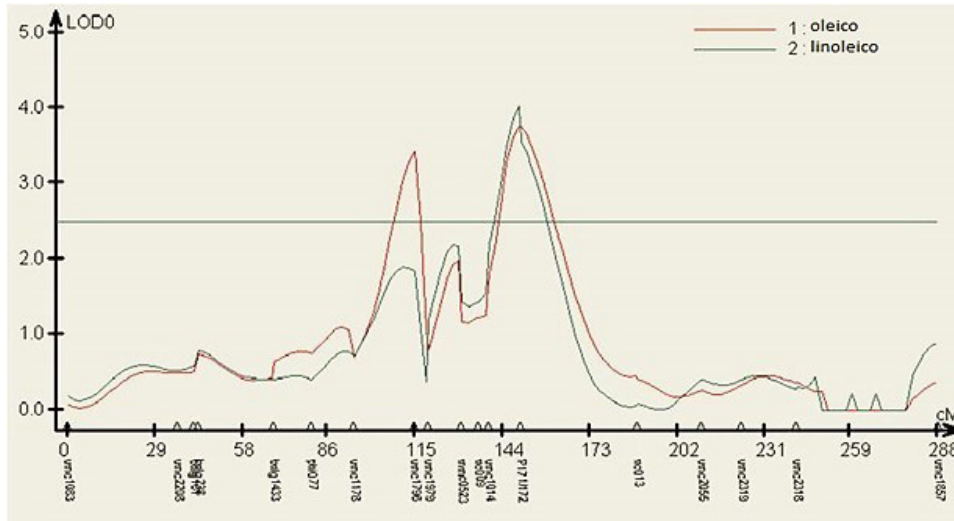


Figura 9. QTLs detectados en una población biparental para el carácter alto contenido de ácido oleico, mediante marcadores microsatélites y un marcador diseñado relacionado con el gen DGTA (P171/172).

Los resultados concuerdan con antecedentes donde se hallaron loci relacionados con el contenido de ácido oleico en los cromosomas 2 (Plewa y Weber, 1975), 4 (Widstrom y Jellum, 1984), 5 (Shadley y Weber, 1980) y 6 (Poneleit, 1976). Además, el marcador umc1887 (bin 6,03-6,04) se encuentra cercano al marcador umc65a y existen antecedentes que indican que este último está ligado al locus In1 (Alrefai, 1995) que sería el locus para el gen de la desaturasa omega 6, que convierte oleico a linoleico y es el principal QTL que controla estos niveles. La asociación de este marcador (umc1887) con el gen In1 aporta una nueva aproximación al QTL que controla la relación entre ambos ácidos grasos.

El presente trabajo formó parte del Proyecto Nacional de INTA, Resolución 789/04, título: Mejoramiento de la sanidad y calidad industrial de maíz y arroz mediante selección asistida por marcadores moleculares.

Conversión de líneas elite de maíz a versiones alto oleico asistida por marcadores moleculares

En INTA Pergamino se llevó a cabo la saturación de marcadores microsatélites (SSRs) sobre las regiones detectadas *a priori* como eventuales QTLs en el cromosoma 6, en dos poblaciones de mapeo F₂, derivadas de los cruzaientos LP199 (alto oleico) x B98 (bajo oleico), y L1445 (alto oleico) x B98 respectivamente (Delucchi *et al.*, 2012). Por un lado, se detectaron QTLs para contenido diferencial de ácido oleico y linoleico en los bins 6,04 y 6,05, lo que permitió la validación de un QTL identificado anteriormente en la población F₂ LP199 x B98 con menos cantidad de microsatélites. Por otro lado, Zheng *et al.* (2008) demostraron que un QTL alto aceite (qHO6) que afecta los contenidos de aceite y ácido oleico en maíz, codifica una acil-CoA:diacilglicerol aciltransferasa (DGAT1-2) que cataliza la

última etapa de la síntesis de aceite. Además, detectaron que la inserción de una fenilalanina en DGAT1-2 en la posición 469 (F469) es responsable del aumento en los contenidos de aceite y de ácido oleico. El alelo DGAT1-2 con F469 es ancestral, mientras que el alelo sin F469 es un mutante más reciente seleccionado por domesticación o mejoramiento. El objetivo del trabajo fue desarrollar marcadores moleculares que permitan seleccionar más eficientemente maíz con aceite alto oleico.

A las líneas elite LP29 y LP214 de INTA Pergamino se les está incorporando el carácter cuantitativo alto contenido de ácido oleico. Se realizaron los cruzamientos y retrocruzamientos a dos líneas inéditas donantes, L1445 y P.3525 respectivamente. Plantas RC₁ fueron autofecundadas y su grano RC₁F₂ evaluado por contenido de ácido oleico, siguiendo las técnicas de muestreo y analíticas descritas por Percibaldi *et al.* (1997). Las plantas con mayor contenido de ácido oleico fueron seleccionadas y recombinadas. Una muestra de los individuos resultantes fue cultivada en la campaña siguiente. De estos individuos se tomaron muestras de hojas para análisis de marcadores moleculares, y se determinó el contenido de ácidos grasos mediante cromatografía gaseosa en las espigas provenientes de autofecundación. En estudios previos del INTA se diseñó un par de primers (P171/172) para el polimorfismo del gen DGTA. Según estudios de mapeo que se realizaron en poblaciones biparentales, el marcador relacionado con el gen DGTA se localiza en el cromosoma 6, ligado al QTL anteriormente detectado (figura 9). Se analizaron en total 75 plantas con el marcador del gen DGTA, y también con dos marcadores microsatélites ligados al QTL de interés (nc009 y umc1014).

El contenido de ácido oleico varió entre 75 plantas evaluadas desde 57,8 a 34%, con una media de 49,87 y un desvío estándar de 3,87 (tabla 9). Los 44 individuos que

Identificación	nc009	umc1014	P171/172	Contenido relativo de ácido oleico (18:1) (%)
LP29	A	A	A	
L1445**	B	B	B	
LP214	C	C	A	
P.3525**	D	D	B	
9088161	BD	BD	B	57,8
9088139	B	B	B	55,2
9088120	B	B	B	55
9088152	-	D	B	55
9088156	D	D	B	55
908895	AB	AB	B	54,8
908898	BD	BD	B	54,3
9088125	D	D	B	54
9088131	BD	BD	B	54
9088149	BD	BD	B	54
9088119	BD	BD	B	45,9
908889	BD	AD	AB	45,5
908870	AB	AB	AB	45,3
9088117	AB	AB	AB	44,5
9088147	AD	AD	AB	44
908886	AD	AD	AB	43,5
9088145	AD	AD	AB	43,2
9088157	AB	AB	AB	42,7
908893	AD	AD	AB	41,8
908892	AD	AB	AB	38,4
908876	AB	AB	AB	37
906731	C	C	A	34
Media General (%)				49,87
Desvío estándar (%)				3,87

Tabla 9. Contenido relativo de ácido oleico de los individuos evaluados y alelos detectados para los tres marcadores analizados*. El individuo 906731 proviene de la línea LP214, los demás de LP29.

* Datos de individuos con contenido de ácido oleico superior a la suma de la media más un desvío estándar e inferior a la media menos un desvío estándar.

** Los alelos B y D de las líneas donantes se consideraron equivalentes en los marcadores nc009 y umc1014, debido a que poseen un antecesor común, y por lo tanto podrían evidenciar cualquiera de los dos alelos.

se ubicaron por encima de la media presentaron con una frecuencia relativa de 0,91 el alelo + del marcador relacionado con el gen DGTA en homocigosis. Se detectó también en la mitad superior el alelo alto oleico en homocigosis en un 84% y 80% de los casos para los dos marcadores microsatélites ligados al QTL de interés. Los 30 individuos ubicados por debajo de la media mostraron genotipos heterocigotas para el marcador DGTA con una frecuencia relativa de 0,57, y entre el 57% y 60% exhibieron genotipos heterocigotas para los dos microsatélites ligados (con el alelo alto oleico y el de la línea recurrente). Si se consideran los individuos con contenido de ácido oleico superior a la suma de la media más un desvío estándar, el 100% de

estos reveló ser homocigota para el alelo + del marcador relacionado con DGTA, y el 90% lo demostró para el alelo alto oleico en los microsatélites ligados. Por el contrario, de los individuos ubicados por debajo del valor de la media menos un desvío estándar, el 91% resultó heterocigota para el marcador del gen DGTA, y también se detectaron 82 y 91% de heterocigotas para los dos microsatélites ligados respectivamente.

Las frecuencias relativas encontradas sugieren que existe una fuerte asociación entre el contenido relativo de ácido oleico y los marcadores moleculares analizados. A su vez, se observó una alta frecuencia de coincidencia entre el alelo + del marcador del gen DGTA y los alelos alto oleico de los mi-

crostatélites ligados, lo que confirmaría los resultados de los estudios de mapeo realizados en poblaciones biparentales.

Los resultados obtenidos señalan la relevancia de utilización de los marcadores moleculares analizados, tanto el relacionado al gen DGTA como los microsatélites ligados al QTL de interés, en programas de selección asistida para maíz alto oleico.

Los dos últimos trabajos presentados forman parte de los Proyectos de INTA PNCYO 1127043 y PNBIO-1131042.

BIBLIOGRAFÍA

- ALEZONES, J.; ÁVILA, M.; CHASSAIGNE, A.; BARRIENTOS, V. 2010. Caracterización del perfil de ácidos grasos en granos de híbridos de maíz blanco cultivados en Venezuela. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Vol. 60 N.º 4.
- ALREFAI, R.; BERKE, T.G.; ROCHEFORD, T.R. 1995. Quantitative trait locus analysis of fatty acid concentrations in maize. *Genome* 38: 894-901.
- ÁLVAREZ, A. 2006. Aplicaciones del maíz en la tecnología alimentaria y otras industrias. Maíz y Nutrición. Recopilación de ILSI Argentina, 9-14.
- ANDERSON, J.A.; CHURCHILL, G.A.; SUTRIQUE, J.E.; TANKSLEY, S.D.; SORRELS, M.E. 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome* 36:181-186.
- ARUMUGANATHAN, K.; EARLE, E. 1991. Nuclear DNA Content of some Important Plant Species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 9, 208-218.
- ASOCIACIÓN ARGENTINA DE GRASAS & ACEITES (ASAGA) 2003. Jornada de Lípidos, Nutrición y Salud. El girasol y maíz como fuente de alimentación saludable. (Disponible: <http://www.asaga.org.ar/index.php/es/institucional/actividades> verificado: 29 de abril de 2015).
- BALCONI, C.; HARTINGS, H.; LAURIA, M.; PIRONA, R.; ROSSI, V.; MOTTO, M. 2007. Gene Discovery to Improve Maize Grain Quality Traits. *Maydica* 52: 357-373.
- BORISJUK, L.; ROLLETSCHEK, H. 2009. The oxygen status of the developing seed. *New Phytologist* 182:17-30.
- BOYER, C.D.; HANNAH, L.C. 2001. Kernel mutants of corn. En: HALLAUER, A.R. (Ed.). *Specialty corns*, 2.ª. ed., CRC Press, Boca Raton, FL, EUA. 1-32 pp.
- BROWSE, J.; SOMERVILLE, C. 1991. Glycerolipid synthesis: biochemistry and regulation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42, 467-506.
- CALVANI, M.; BENATTI, P. 2003. Polyunsaturated fatty acids (PUFA). *Sigma-Tau S.P.A.* 43 p.
- CARRERO, I.; HERRÁEZ, A. 2013. El mundo de los lípidos. *Bio-model: model2*, España.
- CHAI, Y.; HAO, X.; YANG, X.; ALLEN, W.B.; LI, J.; YAN, J.; SHEN, B.; LI, J. 2012. Validation of DGAT1-2 polymorphisms associated with oil content and development of functional markers for molecular breeding of high-oil maize. *Mol. Breed.* 29: 939-949.
- CONNOR, D.; HALL, A. 1997. Sunflower physiology. *Sunflower Science and Technology*. Schneiter. American Society of Agronomy, EUA 113-182 pp.
- CORCUERA, V.R. 2013. Mejora Genética del Maíz. *Desarrollo de Híbridos de Uso Especial. (Uso de Descriptores Agronómicos, Químicos y Métodos Estadísticos aplicados al Análisis de Ensayos Multiambientales)*, 521 páginas. Ed. PUBLICIA, AV Akademiker-verlag GmbH & Co. KG, Saarbrücken, Alemania.
- CORONADO HERRERA, M.; VEGA y LEÓN, S.; REY GUTIÉRREZ, T.; GARCÍA FERNÁNDEZ, B.; DÍAZ GONZÁLEZ, G. 2006. Los ácidos grasos omega-3 y omega-6: nutrición, bioquímica y salud. *Revista de Educación Bioquímica*, 25(3): 72-79.
- CRUPKIN, M.; ZAMBELLI, A. 2008. Detrimental impact of trans fats on human health: Stearic acid-rich fats as possible substitutes. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food safety*. 7:271-279.
- DEFACIO, R.; PERCIBALDI, M.; BRAMARDI, S.; FERRER, M. 2007. Fatty acid composition of oil from 141 Argentinean maize (*Zea mays*) accessions from Buenos Aires province. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. (Disponible:http://www.inta.gov.ar/pergamino/info/documentos/t_maiz/artic36.htm verificado: 29 de abril de 2015).
- DELUCCHI, C.; MOLINS, L.G.; DECKER, V.N.; PERCIBALDI, M.; EYHÉRABIDE, G.H. 2012. Determinación de las bases moleculares de la composición relativa de ácidos grasos en maíz. *BAG. Journal of basic and applied Genetics*. vol. 23 supl.1, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
- DEPETRIS, G.J.; SANTINI, F.J. 2006. Particularidades nutricionales del grano de maíz en la alimentación de bovinos de carne. *Maíz y Nutrición. Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal, Recopilación de ILSI Argentina. Serie de Informes Especiales, volumen II*, 28-31 pp.
- DUNLAP, F.G.; WHITE, P.J.; POLLAK, L.M.; BRUMM, T.J. 1995. Fatty acid composition of oil from adapted, elite corn breeding materials. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 72 (9), 981-987.
- ELDER, J.K.; SOUTHERN, E.M. 1987. Computer-aided analysis of one-dimensional restriction fragment gels. EN: BISHOP, M.J.; RAWLINGS, C.J. (Eds.). *Nucleic acid and protein sequence analysis: a practical approach*. IRL Press, Oxford. 165-172 pp.
- ERKKILÄ, A.; DE MELLO, V.D; RISÉRUS, U.; LAAKSONEN, D.E. 2008. Dietary fatty acids and cardiovascular disease: an epidemiological approach. *Progress in Lipid Research* 47: 172-187.
- EYHÉRABIDE, G.H.; PERCIBALDI, N.M.; BORRÁS, F.S.; PRESELO, D.A. 2005. Mejoramiento de la calidad nutricional del aceite de maíz mediante el desarrollo y selección recurrente intrapoblacional. VIII Congreso Nacional de Maíz., Rosario, Argentina. 336-339 pp.
- FRANKEL, E.N. 2014. *Lipid Oxidation*. Second edition. Woodhead Publishing in Food Science, Technology and Nutrition; 8:187-208.
- GOLDMAN, I.L.; ROCHEFORD, T.R.; DULDEY, J.W. 1994. Molecular markers associated with maize kernel oil concentration in an Illinois High Protein x Illinois Low Protein cross. *Crop Sci*, 34: 908-915.
- GRIGUOL, V.; LEÓN-CAMACHO, M.; VICARIO, I.M. 2007. Revisión de los niveles de ácidos grasos *trans* encontrados en distintos tipos de alimentos. *Grasas y Aceites*. 58(1): 87-98.
- GUNSTONE, F.D. 2001. Oilseed crops with modified fatty acid composition. *J. Oleo Science*, 50: 269-279.
- HALLAUER, A.R.; MIRANDA FILHO, J.B. 1988. Quantitative genetics in maize breeding. 2nd. Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, EUA.
- HARWOOD, J. 1998. Environmental effects on plant lipid biochemistry. En: HARWOOD, J. (ed.). *Plant lipid biosynthesis Series: Society for Experimental Biology, Seminar Series 67*. Cambridge University Press.
- HOURQUESCOS, M.J.; EYHÉRABIDE, G.H.; PERCIBALDI, N.M.; BORRÁS, F.S.; RO BUTTI, J.L. 2001. Actas VII Congreso Nacional de Maíz. AIANBA.
- HU, F.B.; STAMPFER, M.J.; MANSON, J.E.; RIMM, E.; COL-DITZ, G.A.; ROSNER, B.A.; HENNEKENS, C.H.; WILLET, W.C. 1997. Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. *New England Journal of Medicine*, 337, 1491-1499.

- INSTITUTO INTERNACIONAL DE CIENCIAS DE LA VIDA (ILSI). 2014. Base de datos de la composición del grano de cultivo de maíz, versión 4.2.
- INSTITUTO DE ESTUDIOS SOBRE LA REALIDAD ARGENTINA Y LATINOAMERICANA (IERAL) de Fundación Mediterránea. 2011. Una Argentina Competitiva, Productiva y Federal. La cadena del maíz y sus derivados industriales. Documento de trabajo, Año 17, Edición N.º 99.
- IZQUIERDO, N.G.; DOSIO, G.A.A.; CANTARERO, M.; LUJAN, J.; AGUIRREZÁBAL, L.A.N. 2008. Weight per grain, oil concentration, and solar radiation intercepted during grain filling in black hull and striped hull sunflower hybrids. *Crop Science* 48: 688-699.
- JELLUM, M.D. 1970. Plant introductions of maize as a source of oil with unusual fatty acid composition. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 18, 365-370.
- KHOSLA, P.; HAYES, K.C. 1996. Dietary trans-monounsaturated fatty acids negatively impact plasma lipids in humans: critical review of the evidence. *Journal of the American College of Nutrition*, 15(4), 325-339.
- KLEINHOF, A.; KILIAN, A.; SAGHAI MAROOF, M.A.; BIYASHEV, R.M.; HAYES, P.M.; CHEN, F.Q.; LAPITAN, N.; FENWICK, A.; BLAKE, T.K.; KANAZIN, V.; ANANIEV, E.; DAHLEEN, L.; KUDRNA, D.; BOLLINGER, J.; KNAPP, S.J.; LIU, B.; SORRELLS, M.; HEUN, M.; FRANCKOWIAK, J.D.; HOFFMAN, D.; SKADSEN, R.; STEFFENSON, B.J. 1993. A molecular, isozyme and morphological map of the barley (*Hordeum vulgare*) genome. *Theor. Appl. Genet.* 86: 705-712.
- LAMBERT, R.J. 2001. High-oil corn hybrids. En: HALLAUER, A.R. (Ed.). *Specialty corns*. 2^{da} ed. CRC Press Boca Raton, FL, EUA. 479 p.
- LAURIE, C.C.; CHASALOW, S.D.; LEDEAUX, J.R.; MCCARRROLL, R.; BUSH, D.; HAUGE, B.; LAI, C.; CLARK, D.; ROCHEFORD, T.R.; DUDLEY, J.W. 2004. The genetic architecture of response to long-term artificial selection for oil concentration in the maize kernel. *Genetics* 168: 2141-2155.
- LEHNINGER, A.; NELSON, D.; COX, M. 1993. *Principles of Biochemistry*. Second edition. Worth Publisher, Nueva York. 1013 p.
- LUNN, J. 2007. Monounsaturates in the diet. *British Nutrition Foundation, Nutrition Bulletin*. 32:378-391.
- MANGOLIN, C.A.; DE SOUZA, JR. C.L.; GARCIA, A.A.F.; GARCIA, A.F.; SIBOV, S.T.; DE SOUZA, A.P. 2004. Mapping QTLs for kernel oil content in a tropical maize population. *Euphytica* 137: 251-259.
- MANTESE, A.; MEDAN, D.; HALL, A. 2006. Achene Structure, Development and Lipid Accumulation in Sunflower Cultivars Differing in Oil Content at Maturity. *Annals of Botany* 97(6): 999-1010.
- MILLER, M. P. 1997. Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. *Computer software distributed by author*, 4, 157.
- MOTTO, M.; BALCONI, C.; HARTINGS, H.; ROSSI, V. 2010. Gene discovery for improvement of kernel quality-related traits in maize. *Genetika*, Vol. 42, N.º 1, 23-56.
- MORA, F.; ARNHOLD, A. 2006. Inferencia Bayesiana y metodología de modelos lineales mixtos aplicados al mejoramiento del maíz. *Ciencia e Investigación Agraria* 33: 217-223.
- OLIVERA CARRIÓN, M. 2006. Aporte nutricional de las principales formas de consumo del maíz en la alimentación humana. Maíz y Nutrición. Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal. Recopilación de ILSI Argentina. Serie de Informes Especiales, volumen II, 56-62 pp.
- OLMOS, S.; SCHLATTER, A.R.; DELUCCHI, C.; RAVERA, M.; NEGRI, M.E.; MANDOLINO, C.; MROGINSKI, E.; EYHÉRABIDE, G. 2010. Estimación de la estructura genética en las líneas de maíz de INTA Pergamino mediante el programa STRUCTURE v.2.33. Actas resúmenes de trabajos presentados en el Congreso Nacional de Maíz, Rosario, Argentina.
- ONYANGO, A.; MWASARU, M.; KOAZE, H.; BABA, N. 2000. Lipids characterization of some Kenyan Varieties. *Scientific Reports of the Faculty of Agriculture, Okayama University*: 89: 1-3.
- ORCELLET, M. L. 2007. Evaluación del cambio de la estructura genética en una población de maíz sometida a selección recurrente, mediante microsatélites. Tesis Licenciado en Biotecnología, UNR – EEA INTA – Pergamino.
- ORCELLET, M.L.; SCHLATTER, A.R.; EYHÉRABIDE G.H. 2007. Evaluación del cambio de la estructura genética en una población de maíz (*Zea mays* L.) sometida a selección recurrente, mediante microsatélites. REDBIO-Chile.
- ORTEGA, R.M. 2013. Importancia de las grasas en la alimentación. Publicación Prejuicios y verdades sobre las grasas y otros alimentos, Madrid: Universidad Complutense, 2-17.
- ORTHOEFER, F.; EASTMAN, J.; LIST, G. 2003. Corn oil: composition, processing and utilization. En: WHITE, P.J.; JOHNSON, L.A. (Eds.). *Corn Chemistry and Technology*. Minnesota: American Association of Cereal Chemists. 671-694 pp.
- PALIWAL, R.L. 2001. Mejoramiento del maíz por selección recurrente. En: PALIWAL, R.L.; GRANADOS, G.; LAFITTE, H.R.; VIOLIC, A.D. (Eds.). *El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción..* Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma.
- PAMIN, K.; COMPTON, W.A.; WALKER, C.E.; ALEXANDER, D.E. 1986. Genetic variation and selection response for oil composition in corn. *Crop Science*, 26, 279-282.
- PERCIBALDI, N.M.; BORRÁS, F.S.; ROBUTTI, J.L. 1997. Método rápido de extracción y metilación para determinar ácidos grasos en mejoramiento genético de aceite de maíz. Actas VI Congreso Nacional de Maíz, Capítulo IV, 5-8.
- PLEWA, M.J.; WEBER, D.F. 1975. Monosomic analysis of fatty acid composition in embryo lipids of *Zea mays* L. *Genetics*, 81, 277-286.
- PONELEIT, C.G. 1976. Chromosome location for control of oleic and linoleic acids in corn oil. *Agron. Abs.* 8: 59.
- PRITCHARD, J.K.; STEPHENS, M.; ROSENBERG, N.A.; DONNELLY, P. 2000. Association mapping in structured populations. *Am. J. Hum. Genet.* 67: 170-181.
- RATNAYAKE, W.M.N.; PELLETIER, G.; HOLLYWOOD, R.; BACLER, S.; LEYTE, D. 1998. Trans fatty acids in Canadian margarines: recent trends. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 75: 1587-1594.
- RAYMOND, M.; ROUSSET, F. 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution* 49, 1280-1283.
- REYNOLDS, T.L.; NEMETH, M.A.; GLENN, K.C.; RIDLEY, W.P.; ASTWOOD, J.D. 2005. Natural variability of metabolites in maize grain: differences due to genetic background. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 10061-10067.
- ROBBELEN, G. 1991. The genetic improvement of seed oil. *Chem. Ind.*, 713-716.
- ROBUTTI, J.L. 2004. Calidad y usos del maíz. IDIA XXI: Revista de información sobre investigación y desarrollo agropecuario 6(4): 100-104.
- ROSSINI PINTO, L.; CARNEIRO VIEIRA, M.L.; LOPES DE SOUZA JR.C.; PEREIRA DE SOUZA, A. 2003. Reciprocal recurrent selection effects on the genetic structure of tropical maize populations assessed at microsatellite loci. *Genetics & Mol. Biol.*, 26 (3), 355-364.
- RUIZ, M.G.; OLMOS, S.O.; PERCIBALDI, N.M.; DELUCCHI, C.; EYHÉRABIDE, G.E. 2014. Conversión de líneas elite de maíz a versio-

nes alto oleico asistida por marcadores moleculares. Actas resúmenes de trabajos presentados en x Congreso Nacional de Maíz "Maíz HD".

SALEEM, M.; AHSAN, M.; ASLAM, M.; MAJEED, A. 2008. Comparative evaluation and correlation estimates for grain yield and quality attributes in maize. *Pak. J. Bot.* 40(6): 2361-2367.

SCAPIM, C.A.; OLIVEIRA, V.R.; BRACCINI, A.L.; CRUZ, C.D.; ANDRADE, C.A.B.; VIDIGAL, M.C.G. 2000. Yield stability in maize (*Zea mays* L.) and correlations among the parameters of the Eberhart and Russell, Lin and Binns and Huehn models. *Genet. Mol. Biol.* 23: 387-393.

SCHNABLE, P.S.; WARE, D.; FULTON, R.S.; STEIN, J.C.; WEI, F.; PASTERNAK, S.; LIANG, C.; ZHANG, J.; FULTON, L.; GRAVES, T.A.; MINX, P.; REILY, A.D.; COURTNEY, L.; KRUCHOWSKI, S.S.; TOMLINSON, C.; STRONG, C.; DELEHAUNTY, K.; FRO-NICK, C.; COURTNEY, B.; ROCK, S.M.; BELTER, E.; DU, F.; KIM, K.; ABBOTT, R.M.; COTTON, M.; LEVY, A.; MARCHETTO, P.; OCHOA, K.; JACKSON, S.M.; GILLAM, B.; CHEN, W.; YAN, L.; HIGGINBOTHAM, J.; CARDENAS, M.; WALIGORSKI, J.; APPLEBAUM, E.; PHELPS, L.; FALCONE, J.; KANCHI, K.; THANE, T.; SCIMONE, A.; THANE, N.; HENKE, J.; WANG, T.; RUPPERT, J.; SHAH, N.; ROTTER, K.; HODGES, J.; INGENTHRON, E.; CORDES, M.; KOHLBERG, S.; SGRO, J.; DELGADO, B.; MEAD, K.; CHINWALLA, A.; LEONARD, S.; CROUSE, K.; COLLURA, K.; KUDRNA, D.; CURRIE, J.; HE, R.; ANGELOVA, A.; RAJASEKAR, S.; MUELLER, T.; LOMELI, R.; SCARA, G.; KO, A.; DELANEY, K.; WISSOTSKI, M.; LOPEZ, G.; CAMPOS, D.; BRAIDOTTI, M.; ASHLEY, E.; GOLSER, W.; KIM, H.; LEE, S.; LIN, J.; DUJMIC, Z.; KIM, W.; TALAG, J.; ZUCCOLO, A.; FAN, C.; SEBASTIAN, A.; KRAMER, M.; SPIEGEL, L.; NASCIMENTO, L.; ZUTAVERN, T.; MILLER, B.; AMBROISE, C.; MULLER, S.; SPOONER, W.; NARE-CHANIA, A.; REN, L.; WEI, S.; KUMARI, S.; FAGA, B.; LEVY, M.J.; MCMAHAN, L.; VAN BUREN, P.; VAUGHN, M.W.; YING, K.; YEY, C.T.; EMRICH, S.J.; JIA, Y.; KALYANARAMAN, A.; HSIA, A.P.; BARBAZUK, W.B.; BAUCOM, R.S.; BRUTNELL, T.P.; CARPITA, N.C.; CHAPARRO, C.; CHIA, J.M.; DERAGON, J.M.; ESTILL, J.C.; FU, Y.; JEDDELOH, J.A.; HAN, Y.; LEE, H.; LI, P.; LISCH, D.R.; LIU, S.; LIU, Z.; NAGEL, H.; McCANN, M.C.; SANMIGUEL, P.; MYERS, A.M.; NETTLETON, D.; NGUYEN, J.; PENNING, B.W.; PONNALA, L.; SCHNEIDER, K.L.; SCHWARTZ, D.C.; SHARMA, A.; SODERLUND, C.; SPRINGER, N.M.; SUN, Q.; WANG, H.; WATERMAN, M.; WESTERMAN, R.; WOLFGRUBER, T.K.; YANG, L.; YU, Y.; ZHANG, L.; ZHOU, S.; ZHU, Q.; BENNETZEN, J.L.; DAWE, R.K.; JIANG, J.; JIANG, N.; PRESTING, G.G.; WESSLER, S.R.; ALURU, S.; MARTIENSSSEN, R.A.; CLIFTON, S.W.; MCCOMBIE, W.R.; WINGM, R.A.; WILSON, R.K. 2009. The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. *Science*, 326: 1112-1115. SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, PESCA Y ALIMENTOS (SAGPyA). 2003. Exportaciones de granos según destinos. Boletín de Agosto, Buenos Aires.

SHADLEY, J.D.; WEBER, D.F. 1980. Identification of a factor in maize that increases embryo fatty acid unsaturation by trisomic and B-A translocational analyses. *Can. J. Genet. Cytol.*, 22, 11-19.

SHEN, N.; DUVICK, S.; WHITE, P.; POLLAK, L. 1999. Oxidative Stability and Aroma Scan Analyses of Corn Oils with Altered Fatty Acid Content. *JAOCs*. 76(12): 1425-1429.

SONG, X.F.; SONG, T.M.; DAI, J.R.; ROCHEFORD, T.; LI, J.S. 2004. QTL mapping of kernel oil concentration with high-oil maize by SSR markers. *Maydica* 49: 41-48.

SPRAGUE, G.F.; BRIMHALL, B. 1950. Relative effectiveness of two systems of selection for oil content of the corn kernel. *Agron. J.* 42: 83-88.

STATISTICAL DISCOVERY (SAS). 2007. Institute, JMP a business unit of SAS. Version 7.0.2. SAS Institute Inc.

STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. 1980. Principles and procedures of statistics. A biometrical approach. McGraw-Hill.

SUN, D.; GREGORY, P.; GROGAN, C.O. 1978. Inheritance of saturated fatty acids in maize. *J. Hered.*, 69, 341-342.

THE FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO) 2003. Selected indicators of food and agriculture development in Asia-Pacific region. RAP Publication 2003/10, Bangkok, Tailandia, 207 p.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). 2014. Informe de Estimaciones de Oferta y Demanda Mundial de Granos N.º 506.

VELASCO, L.; FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, J.M. 2002. Breeding oilseed crops for improved oil quality. *Journal of Crop Production*. 5: 309-344.

VELÁSQUEZ, G. 2006. Fundamentos de alimentación saludable. Editorial Universidad de Antioquia, Medellín, 47 p.

WAGNER, K.H.; AUER, E.; ELMADFA, I. 2000. Content of trans fatty acids in margarines, plant oils, fried products and chocolate spreads in Austria. *European Food Research and Technology* 210, 237-241.

WARNER, K.; KNOWLTON, S. 1997. Frying Quality and Oxidative Stability of High-Oleic Corn Oils. *JAOCs*. 74(10): 1317-1321.

WASSOM, J.; MIKKELINENI, V.; BOHN, M.; ROCHEFORD, T. 2008. QTL for Fatty Acid Composition of Maize Kernel Oil in Illinois High Oil × B73 Backcross-Derived Lines. *Crop Sci.* 48: 69-78.

WEBER, E.J. 1982. Genetic diversity in cereal lipids. Proceedings of the 7th World Cereal and Bread Congress held at Prague. 195-200 pp.

WEBER, E.J. 1983. Variation in corn (*Zea mays* L.) for fatty acid compositions of triglycerides and phospholipids. *Biochemical Genetics*, 21, 1-13.

WEBER, E.J. 1987. Lipids of the kernel. En: WATSON, S.A.; RAMSTAD, P.E. (Eds.). Corn: Chemistry and Technology. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota, 311-349 pp.

WEI, F.; ZHANG, J.; ZHOU, S.; HE, R.; SCHAEFFER, M.; COLLURA, K.; KUDRNA, D.; FAGA, B.P.; WISSOTSKI, M.; GOLSER, W.; ROCK, S.M.; GRAVES, T.A.; FULTON, R.S.; COE, E.; SCHNABLE, P.S.; SCHWARTZ, D.C.; WARE, D.; CLIFTON, S.W.; WILSON, R.K.; WING, R.A. 2009. The physical and genetic framework of the maize B73 genome. *PLoS Genet.* 5: e1000715.

WHITE, P.J.; WEBER, E.J. 2003. Lipids of the kernel. En: WHITE, P.J.; JOHNSON, L.A. (Eds.). Corn: Chemistry and Technology. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota. 355-405 pp.

WIDSTROM, N.W.; JELLUM, M.D. 1984. Chromosomal location of genes controlling oleic and linoleic acid composition in the germ oil of two maize inbreds. *Crop Science*, 24, 1113-1115.

WRIGHT, A. 1995. A gene conditioning High oleic maize oil, *o/c1*. *Maydica*, 40, 85-88.

YANG, X.; GUO, Y.; YAN, J.; ZHANG, J.; SONG, T.; ROCHEFORD, T.; LI, J.S. 2010. Major and minor QTL and epistasis contribute to fatty acid compositions and oil content in high-oil maize. *Theor Appl Genet* 120: 665-678.

ZHENG, P.; ALLEN, W.B.; ROESLER, K.; WILLIAMS, M.E.; ZHANG, S.; LI, J.; GLASSMAN, K.; RANCH, J.; NUBEL, D.; SOLAWETZ, W.; BHATRAMAKKI, D.; LLACA, V.; DESCHAMPS, S.; ZHONG, G.; TARCZYNSKI, M.C.; SHEN, B. 2008. A phenylalanine in DGAT is a key determinant of oil content and composition in maize. *Nature Genetics*, 40, 367-372.

ZUIL, S. 2009. Híbridos de maíz y girasol con calidad de aceites mejorada. Efecto de radiación solar interceptada y temperatura sobre su composición ácida. Tesis de maestría.

Caracterización de la resistencia al pulgón verde de los cereales (*Schizaphis graminum*) en cultivares de cebada bajo condiciones controladas

TOCHO, É.¹; TACALITI, M.S.²; MUSA, A.³; GONZÁLEZ, G.A.⁴; MOREYRA, F.⁴; GIMÉNEZ, F.⁴.

RESUMEN

Con el objetivo de identificar fuentes de resistencia a *Schizaphis graminum*, una de las principales plagas que afectan a los cereales de invierno, se evaluaron variedades comerciales y líneas experimentales de cebada en condiciones de laboratorio. La tolerancia de las plantas a la alimentación del pulgón verde de los cereales fue evaluada a través de la medición de la pérdida de peso seco aéreo y del contenido de clorofila en plantas infestadas en comparación con sus respectivos controles sin infestación. Además, fueron clasificadas mediante el daño efectuado por el insecto luego de un período de infestación, según una escala de 1 a 9, donde 1= planta sin daño y 9= planta muerta. Los materiales que presentaron valores de 1 a 3 fueron consideradas plantas resistentes, de 4 a 6 moderadamente resistentes a moderadamente susceptibles y de 7 a 9 susceptibles. Se determinó el efecto de antibiosis que ejercen los distintos genotipos sobre la longevidad y la fecundidad de los insectos confinados en ellos. Los análisis estadísticos evidenciaron diferencias significativas en la resistencia a *S. graminum* entre los germoplasmas evaluados. Entre ellos, las variedades Quilmes Carisma, Sylphide, Sunshine y la línea experimental LE 3 fueron las más tolerantes a la alimentación del áfido y a su vez, Sylphide mostró efectos antibióticos. Sin embargo, estas variedades no son las más representativas de la producción de cebada en Argentina. En tanto, las variedades que ocupan la mayor superficie de producción (Andreia, Shakira y Scarlett) fueron caracterizadas como susceptibles o moderadamente susceptibles. Los resultados destacan la importancia de conocer la resistencia a una determinada plaga, ya que puede ser un factor condicionante en la elección de las variedades en especial en las regiones donde la plaga puede generar daños de importancia. Además, la información obtenida representa un recurso de valor para ser utilizado en los programas de mejoramiento en la búsqueda de cultivares con resistencia genética al pulgón verde de los cereales.

Palabras clave: *Hordeum vulgare*, áfidos, resistencia.

¹CONICET, Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP) CC 31, 1900, La Plata, Buenos Aires. Correo electrónico: ericatocho@yahoo.com.ar

²Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, CC 31, 1900, La Plata, Buenos Aires. Correo electrónico: msilviatacaliti@yahoo.com.ar

³Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, CC 31, 1900, La Plata, Buenos Aires.

⁴Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Bordenave, Mejoramiento y Calidad Vegetal, 36,5, Bordenave. Correo electrónico: moreyra.federico@inta.gov.ar

Recibido 11 de abril de 2017 // Aceptado 22 de julio de 2017 // Publicado online 21 de agosto de 2019

ABSTRACT

In order to identify sources of resistance to *Schizaphis graminum*, main pests affecting winter cereals, commercial varieties and experimental lines of barley were evaluated under laboratory conditions. Plant tolerance to greenbug feeding was assessed by measuring dry air weight loss and chlorophyll content in infested plants compared with respective not infested controls. In addition, genotypes were classified by damage insect done after a period of infestation, using a scale of 1 to 9, where 1 = plant without damage and 9 = dead plant. Genotypes with values from 1 to 3 were considered resistant plants, from 4 to 6 moderately resistant to moderately susceptible and from 7 to 9 susceptible. Genotypes antibiotics effect was determined by longevity and fecundity of the insects. Significant differences in resistance to *S. graminum* among evaluated germplasm were found. Among them, Quilmes Carisma, Sylphide, Sunshine and LE 3 (experimental line) were the most tolerant to aphid feed, and Sylphide showed antibiotic effect. However, these varieties are not most representative barley production in Argentina. Meanwhile, Andreia, Shakira and Scarlett were characterized as susceptible or moderately susceptible and these varieties are most representative barley production in Argentina. The results shown the importance of knowing the resistance to a particular pest, due it can be a conditioning factor in choice of varieties especially in regions where the pest can generate important damages. In addition, information obtained represents a valuable resource to be used in breeding programs in the search for cultivars with genetic resistance to green aphid from cereals.

Keywords: *Hordeum vulgare*, aphids, resistance.

INTRODUCCIÓN

La cebada (*Hordeum vulgare* L.) es el cereal de invierno más importante en Argentina después del trigo pan (*Triticum aestivum* L.). Desde el año 2001 hasta la actualidad la superficie destinada a este cultivo se incrementó a razón de 40.000 ha año⁻¹ y ha triplicado su producción en esta etapa (Abeledo y Miralles, 2011). Esta expansión fue acompañada por un proceso de ampliación del panorama varietal, en el cual el uso del cultivar Scarlett en un 90% de la superficie (Cattáneo, 2016) fue reemplazado por nuevas variedades con mayor potencial de rendimiento y sanidad (Conti, 2016). La expansión geográfica del cultivo de cebada y la introducción en el mercado de nuevos cultivares evidencian la necesidad de estudiar la respuesta de los recursos genéticos disponibles frente a diferentes estreses bióticos.

Dentro de las plagas, los pulgones o áfidos constituyen el principal problema en todas las regiones de producción cerealera del país. Los áfidos ocasionan daños directos e indirectos en los cultivos que atacan. Los primeros son ocasionados por la extracción de la savia de las plantas de las cuales se alimentan y por la inyección de saliva tóxica, produciendo como consecuencia de ello marchitamiento, clorosis, manchas, disminución en el rendimiento e incluso la muerte ante ataques graves. Los daños indirectos se deben principalmente a la acción de los pulgones como transmisores o vectores de virus (Dughetti, 2012). Entre los áfidos el "pulgón verde de los cereales" *Schizaphis graminum* (Rondani, 1852) es una de las plagas que ocasiona daños severos y frecuentes principalmente en el cultivo de trigo y cebada. Los daños mayores son ocasionados durante las primeras dos a tres semanas de emergido el cultivo, al estado de plántula (Dughetti, 2012) en el cual se han registrado pérdidas de rendimiento del 50% en Estados Unidos (Kieckhefer y Kantack, 1986). Por este motivo el

umbral de control en estado vegetativo del cultivo es de 3-5 pulgones/planta y en estados avanzados es de 10-15 pulgones/planta (Dughetti, 2012). Si bien es factible en esta y otras plagas realizar control químico, la herramienta más efectiva y menos nociva, en término medioambientales, es la utilización de cultivares con resistencia genética.

La resistencia genética permite que un determinado genotipo se comporte en forma diferencial respecto de otro frente a la presencia de una plaga. La expresión de la resistencia en la interacción planta-insecto fue definida por Painter (1951) quien la clasificó en tres categorías: anti-xenosis, antibiosis y tolerancia. El conocimiento de esta interacción es básico para el manejo de los insectos y fundamental para el mejoramiento genético. La tolerancia es la capacidad de las plantas de superar el ataque de una plaga sin que sufran una pérdida significativa de la calidad y cantidad de su producción, en comparación con un testigo susceptible. En tanto la antibiosis representa los efectos adversos de la planta que provocan la modificación de la biología del insecto que se alimenta de ella, de esta forma afecta directa o indirectamente el potencial de reproducción de este (Painter, 1951).

Por ello, el objetivo del trabajo ha sido evaluar fenotípicamente el comportamiento de variedades comerciales y líneas experimentales de cebada frente a la infestación con el pulgón verde de los cereales (*Schizaphis graminum*) para identificar las más resistentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de áfidos

Se utilizó una población de pulgón verde de los cereales recolectados en numerosos campos de la provincia de

Buenos Aires y criados sobre una mezcla de cultivares de cebada en macetas de un kg de capacidad, utilizando tierra fértil como sustrato. Las macetas de cría fueron protegidas con jaulas plásticas, ventiladas en uno de sus extremos con una malla de voile para permitir la aireación, mantenidas todas ellas en un insectario bajo condiciones controladas de luz (14:10 luz/oscuridad) y temperatura (20 °C +/- 3 °C).

Material vegetal

Se evaluaron 20 variedades comerciales de cebada cervecera que representan la totalidad del área sembrada en nuestro país y tres líneas experimentales pertenecientes al programa de mejoramiento de la EEA Bordenave del INTA (tabla 1).

Ensayo de tolerancia

La tolerancia al pulgón verde de los cereales fue evaluada a través de la medición de diferentes parámetros de crecimiento y cálculos de índices de las plantas siguiendo

el método de Flinn *et al.* (2001). El ensayo fue realizado bajo condiciones controladas de luz (14:10 luz/oscuridad) y temperatura (15 °C +/- 3 °C). Las semillas de todos los genotipos de cebada fueron pregerminadas en cajas de Petri y luego trasplantadas a macetas plásticas de 8 cm de diámetro y 10 cm de altura. Al estado fenológico de segunda hoja expandida, dos plantas de un mismo genotipo fueron dispuestas en parejas según altura y crecimiento similar. Una de las plantas de cada par fue infestada con ocho pulgones adultos colocados en la base del tallo con un pincel de cerdas finas. La otra planta permaneció sin infestación como testigo. Las macetas fueron ubicadas según un diseño en bloques completos al azar, con 10 repeticiones y cada bloque contó con un par de plantas de cada genotipo. Cada maceta (infestadas y controles) fue cubierta, durante el ensayo, con una jaula plástica con ventilación en el extremo superior para permitir la aireación y evitar la fuga y contaminación de los insectos.

A los 21 días aproximadamente, o cuando el genotipo más susceptible presentó el 95% de clorosis en la primera

Variedades evaluadas	Año de inscripción	País de origen	Responsable en Argentina
7302 INTA	2013	Argentina	INTA EEA IBordenave
Andreia	2011	Alemania	Cervecería y Maltería Quilmes
Explorer	2012	Francia	SECOBRA RECHERCHES S.A.
Ivanka INTA	2014	Argentina	INTA EEA Bordenave
Jeniffer	2014	Alemania	Cargill S. A.
Josefina INTA	2007	Argentina	INTA EEA Bordenave
LE 1	--	Argentina	INTA EEA Bordenave
LE 2	--	Argentina	INTA EEA Bordenave
LE 3	--	Argentina	INTA EEA Bordenave
MP1012	2009	Argentina	Maltería Pampa S.A.
MP1109	2007	Argentina	Maltería Pampa S.A.
MP2122	2011	Argentina	Maltería Pampa S.A.
Prestige	2011	Francia	Cargill S. A.
Quilmes Carisma	2009	Argentina	Cervecería y Maltería Quilmes
Sara INTA	2015	Argentina	INTA EEA Bordenave
Scarlett	1999	Alemania	Cargill S. A.
Scrabble	2013	Inglaterra	Maltería Pampa S.A.
Shakira	2007	Alemania	Cervecería y Maltería Quilmes
Silera INTA	2016	Argentina	INTA EEA Bordenave
Sunshine	--	Alemania	Saatzucht Josef Breun GmbH & Co
Sylphide	2010	Francia	Florimond Desprez
Traveler	2014	Francia	SECOBRA RECHERCHES S.A.
Umbrella	2014	Dinamarca	Cargill S. A.

Tabla 1. Nombre, año de inscripción, país de origen y responsable en Argentina de las variedades comerciales y líneas experimentales utilizadas en el estudio (INASE, 2017).

hoja, se dio por finalizado el ensayo. El daño fue evaluado en forma visual en las plantas infestadas y clasificado según la escala propuesta por Webster *et al.* (1991), donde: 1= planta sin daño y 9= planta muerta. Los valores de la escala de 1 a 3 indican planta resistente, de 4 a 6 moderadamente resistente a moderadamente susceptible y de 7 a 9 susceptible (Webster *et al.*, 1991). Se determinó el peso seco aéreo (PS) de cada planta con una balanza de precisión Mettler Toledo, expresado en miligramos (mg), luego de un proceso de secado en una estufa a 65 °C durante 72 horas. Con los valores obtenidos se calculó el índice de peso seco (IPS) $IPS=PSI/PSC$, donde PSI es el peso seco de las plantas infestadas y PSC es el peso seco de las plantas control. También se estimó el contenido de clorofila en la primera y segunda hoja utilizando un medidor automático SPAD-502 Minolta (Milton Keynes). Se tomaron 3 medidas en cada una de las hojas (zona apical, media y basal) y se calculó el promedio entre los valores. Con estos resultados se calculó el índice de clorofila (ICL) para cada genotipo: $ICL= CLI/CLC$, donde CLI representa al valor de las unidades SPAD de las plantas infestadas con pulgones y CLC de las plantas controles sin infestación. Esto se repitió para la primera y segunda hoja, ICL_{H1} e ICL_{H2} respectivamente. Los índices representan una estimación del com-

portamiento de las plantas infestadas con pulgón verde en relación a sus respectivos controles sin infestación.

Ensayo de antibiosis

La antibiosis se determinó mediante un ensayo con 10 repeticiones de cada genotipo, realizando el seguimiento individual del ciclo de vida de los áfidos desde su nacimiento hasta la muerte.

Se siguió el método de Flinn *et al.* (2001) modificado por Tocho *et al.* (2012). El ensayo fue realizado bajo condiciones controladas de luz (14:10 luz/oscuridad) y temperatura (15 °C +/- 3 °C). Las semillas de cada genotipo, pregerminadas en cajas de Petri, fueron dispuestas en forma individual en el centro de macetas plásticas, ubicadas bajo un diseño completamente al azar. Al estado de primera hoja expandida, las plantas fueron infestadas con dos ninfas neonatas del primer estadio, extraídas de las macetas de cría. Las ninfas fueron observadas cada 48 h hasta que alcanzaron su período reproductivo. En ese momento una de ellas fue retirada y se continuó el ciclo de la ninfa restante hasta su muerte o hasta pasados 3 días del final del ciclo reproductivo. En cada evaluación, la descendencia fue re-

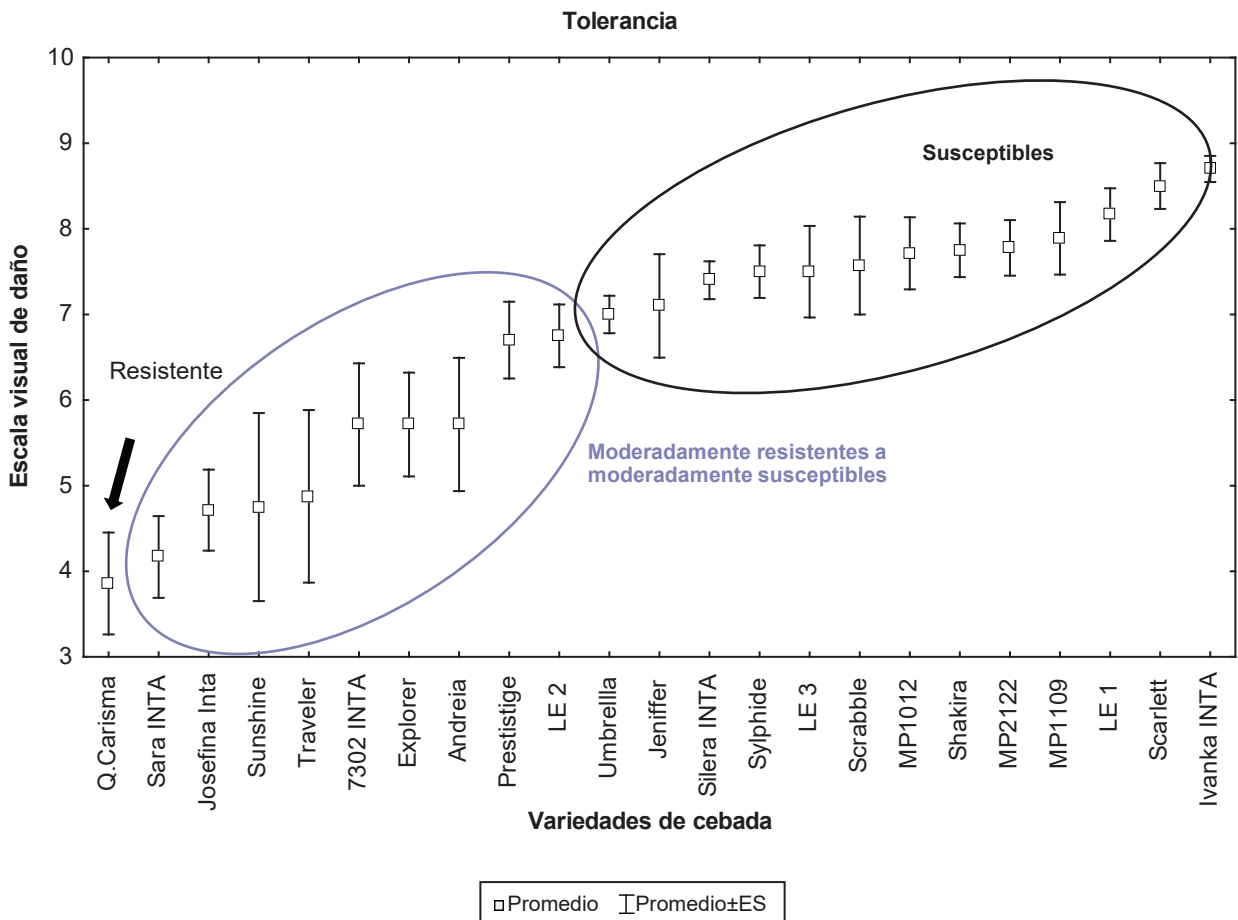


Figura 1. Representación de la tolerancia de variedades de cebada frente al daño ocasionado por *Schizaphis graminum*, según una escala de daño clorótico foliar. Resistente (1-3), moderadamente resistente a moderadamente susceptible (4-6) y susceptible (7-9).

gistrada y removida de la planta hasta la finalización del período reproductivo de la hembra adulta. Se evaluó la longevidad (L), período que media entre el día del nacimiento de la ninfa hasta la muerte de la hembra o, en su defecto, hasta 3 días posteriores a la finalización del período reproductivo y el número de ninfas totales producidas por hembra durante todo su ciclo, denominado fecundidad (F).

Análisis estadísticos

Los datos provenientes de cada ensayo fueron analizados con el programa estadístico Statistica versión 10 (2011), mediante un análisis de la varianza (ANAVA) de una sola vía. Cuando el ANAVA indicó diferencias significativas entre tratamientos se utilizó la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$) para determinar diferencias entre los valores promedios. Se estudió el comportamiento de los valores residuales para corroborar el cumplimiento de los supuestos del ANAVA. Según los resultados del test de Bartlett, se llevó a cabo una transformación de los datos de algunos parámetros evaluados aplicando la raíz cuadrada, con el fin de normalizar los datos y de homogeneizar la varianza del error. Sin embargo, para la presentación de los resultados en los gráficos se utilizaron los datos sin transformar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo de tolerancia

Los análisis estadísticos indicaron diferencias significativas en el nivel de daño entre los genotipos de cebada (F: 6,10; g.l.: 161; p: 0,00003).

La mayor parte de los materiales se comportaron como susceptibles (7-9 en la escala utilizada) luego de 21 días de infestación, presentando la primera y segunda hoja con daño clorótico en su totalidad o casi en su totalidad, entre los que se encuentran los cultivares Scarlett y Shakira (figura 1). Otros 8 genotipos fueron caracterizados con un nivel intermedio de tolerancia (4-6 en la escala), con daño clorótico total en la primera hoja y con menor porcentaje de daño en la segunda, entre los que se encuentra el cultivar Andreia. El cultivar Quilmes carisma (Q. carisma) presentó el menor daño foliar, en tanto Sara INTA y Josefina INTA mostraron un aceptable nivel de tolerancia, aun cuando se ubicaron en el grupo de cultivares con niveles intermedios de resistencia (figura 1).

El ANAVA mostró diferencias significativas para las variables IPS (F: 20,6; g.l.: 22; p: 0,0001) e ICL_{H1} (F: 9,03; g.l.: 22; p: 0,0001) y ICL_{H2} (F: 4,21; g.l.: 22; p: 0,0001).

Todos los cultivares infestados con áfidos evidenciaron una pérdida de peso seco que se tradujo en un mayor o menor valor del IPS en relación con sus respectivos controles. Las variedades con mayor IPS son capaces de mantener un peso similar al de sus controles luego del período de infestación, sin que se vea significativamente afectado el crecimiento de las plantas. Los genotipos MP1012, Sylphide, LE 3 y Traveler fueron los más tolerantes en cuanto al IPS, con diferencias estadísticas significativas respec-

to de los materiales más susceptibles: Scrabble, Explorer, 7302 INTA y MP1109. Los genotipos restantes tuvieron valores intermedios del IPS entre 0,6 y 0,8, lo cual equivale a una pérdida de peso seco de las plantas dañadas del 60 al 80%.

La totalidad de las plantas que fueron expuestas a la alimentación del insecto manifestaron daño clorótico en relación con los testigos sin infestación, quienes mantuvieron el verdor de sus hojas sin pérdida de clorofila. Sin embargo, como fue mencionado anteriormente y quedó expresado en la escala visual de daño, la primera hoja fue la más afectada en todas las variedades. En la segunda hoja, el daño fue apreciable, pero menor que en la hoja más vieja.

Esto responde a un patrón de alimentación espacial y temporal (Weng *et al.*, 2002) de esta especie de áfidos que difiere de otras especies tales como el "pulgón ruso del trigo" (*Diuraphis noxia* M.). El pulgón verde comienza a alimentarse por el tallo de las plántulas y continúa hacia la primera hoja. Una vez que dicha hoja está en su gran mayoría dañada con pérdida de clorofila y de turgencia, el insecto se desplaza hacia los tejidos foliares más nuevos. Pudo observarse en el ensayo el movimiento acrópeto de los insectos y su consecuente daño.

Hubo una amplia variabilidad en el ICL en la primera hoja con diferencias significativas entre ellas. Scrabble, Scarlett, LE 1 y Umbrella fueron los genotipos más susceptibles, diferenciándose de Prestige, Traveler, Silera INTA, Sara INTA, Sunshine, Jennifer, LE 3, Q. carisma y Sylphide, que tuvieron un ICL superior al 50% (figura 2). Las variedades restantes tuvieron ICL con valores intermedios a las situaciones mencionadas previamente.

En cuanto al ICL en la segunda hoja, Sunshine, Q. carisma, LE 2, Sylphide y Josefina INTA fueron las más tolerantes con diferencias estadísticas significativas con Scrabble, Scarlett, Shakira, MP1012 y MP1109.

Hay muchos factores que afectan las respuestas de la planta al daño provocado por los áfidos, entre ellos, el tiempo de infestación (estación o estado de crecimiento de la planta), la duración de la infestación, el estrés ambiental (especialmente sequía) y el estado nutricional del hospedante (Burd *et al.*, 1998). En los cereales atacados con áfidos una de las principales respuestas implica un desbalance hídrico y reducción del crecimiento. Las plantas que presentan resistencia pueden recuperar las tasas de crecimiento y continuar su desarrollo normal cuando los áfidos son removidos de estas (Burd y Burton, 1992), situación comúnmente observada en el campo.

La pérdida de peso seco es considerada la medición óptima para estimar la tolerancia bajo la presencia de *Schizaphis graminum*. Sin embargo, la determinación del contenido de clorofila provee una estimación de la habilidad de la planta de sobrevivir al ataque de áfidos, dado que los vegetales necesitan de este pigmento para producir biomasa. Si la planta no sufre una pérdida excesiva de clorofila como resultado de la alimentación del áfido, podría considerarse tolerante (Lage *et al.*, 2003).

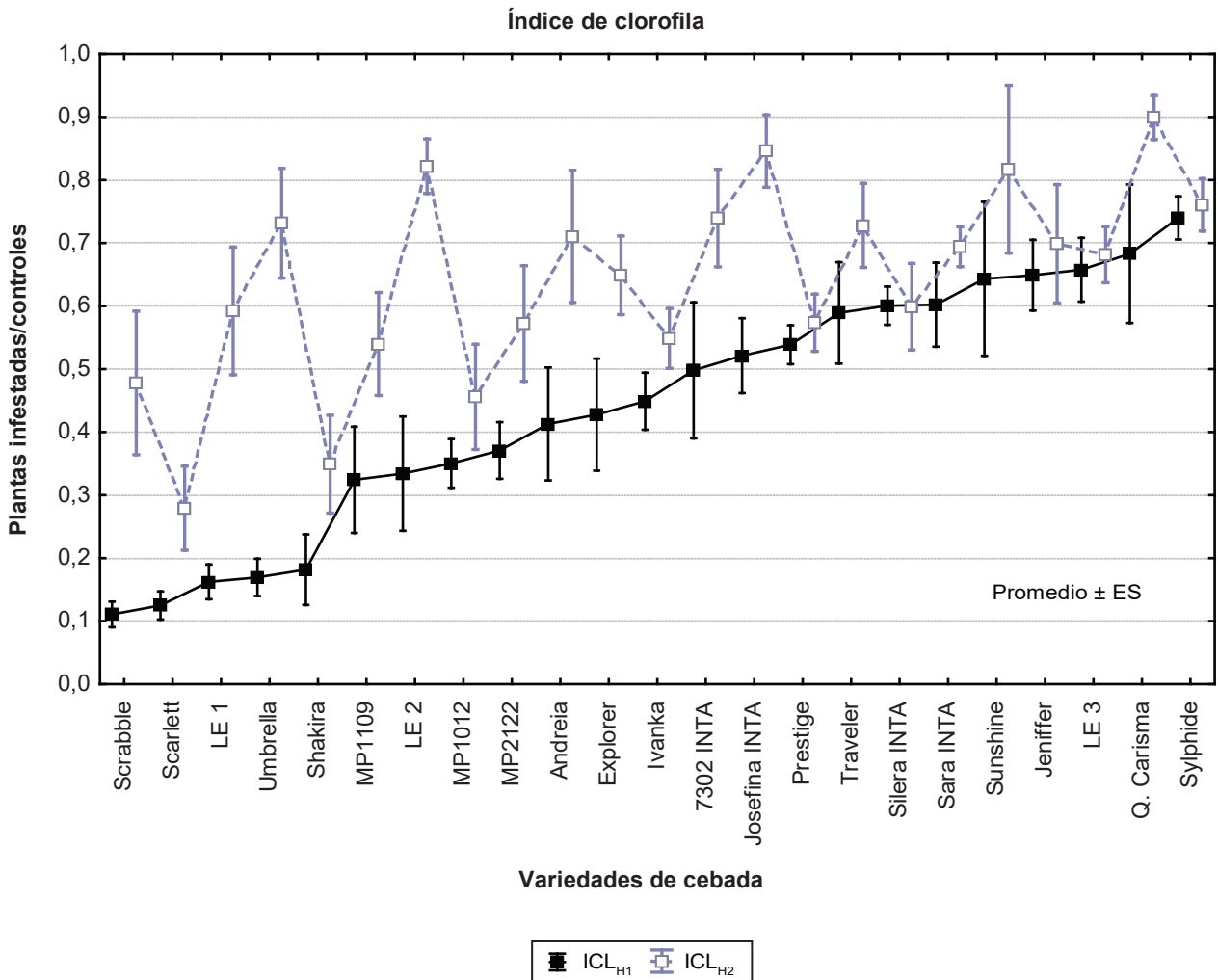


Figura 2. Índice de Clorofila calculado para la primera (ICL_{H1}) y segunda hoja (ICL_{H2}) de variedades de cebada, luego de un período de infestación con *Schizaphis graminum*.

En resumen, (Q. carisma) y Sunshine podrían clasificarse como tolerantes al pulgón verde según la escala visual, que tuvieron escasa pérdida de peso seco en relación con sus testigos, pero que además, mantuvieron la clorofila en la primera y segunda hoja. En tanto Sylphide y LE 3 fueron susceptibles según la escala visual de daño, pero al compararlas con sus respectivos controles sin infestación evidenciaron signos de tolerancia, con bajas diferencias en el contenido de clorofila en ambas hojas y en la pérdida de peso seco. Josefina INTA, Jennifer y Traveler también estuvieron entre las variedades medianamente tolerantes.

Dentro de los cultivares más susceptibles se ubican Scrabble, Scarlett, Shakira y MP1109 entre otros, con mayores pérdidas de peso seco y clorofila.

Ensayo de antibiosis

Se encontraron diferencias estadísticas significativas en la longevidad (L) (F: 2,40; g.l.: 138; p: 0,0018) y en la fe-

cundidad (F) (F=2,324; g.l.=138; p=0,0027) de los áfidos que fueron criados sobre diferentes variedades de cebada.

El ciclo de vida (longevidad) del pulgón confinado sobre las distintas variedades de cebada, varió entre un promedio mínimo de 34 días en Q. carisma y máximo de 44 días en Andrea. El resto de las variedades no mostraron diferencias significativas entre sí (figura 3).

El número de ninfas producido por hembra durante su ciclo de vida (F) fue variable entre los materiales de cebada evaluados, con un mínimo de 48 y un máximo de 130 insectos. En todos los genotipos se observó una elevada fecundidad, pero solo Jennifer permitió el desarrollo del mayor número de áfidos, con diferencias estadísticas significativas con otras 7 variedades que condicionaron una menor fecundidad (figura 4).

Es importante destacar que la mayoría de las variedades consideradas más antibióticas por condicionar ciclos cortos

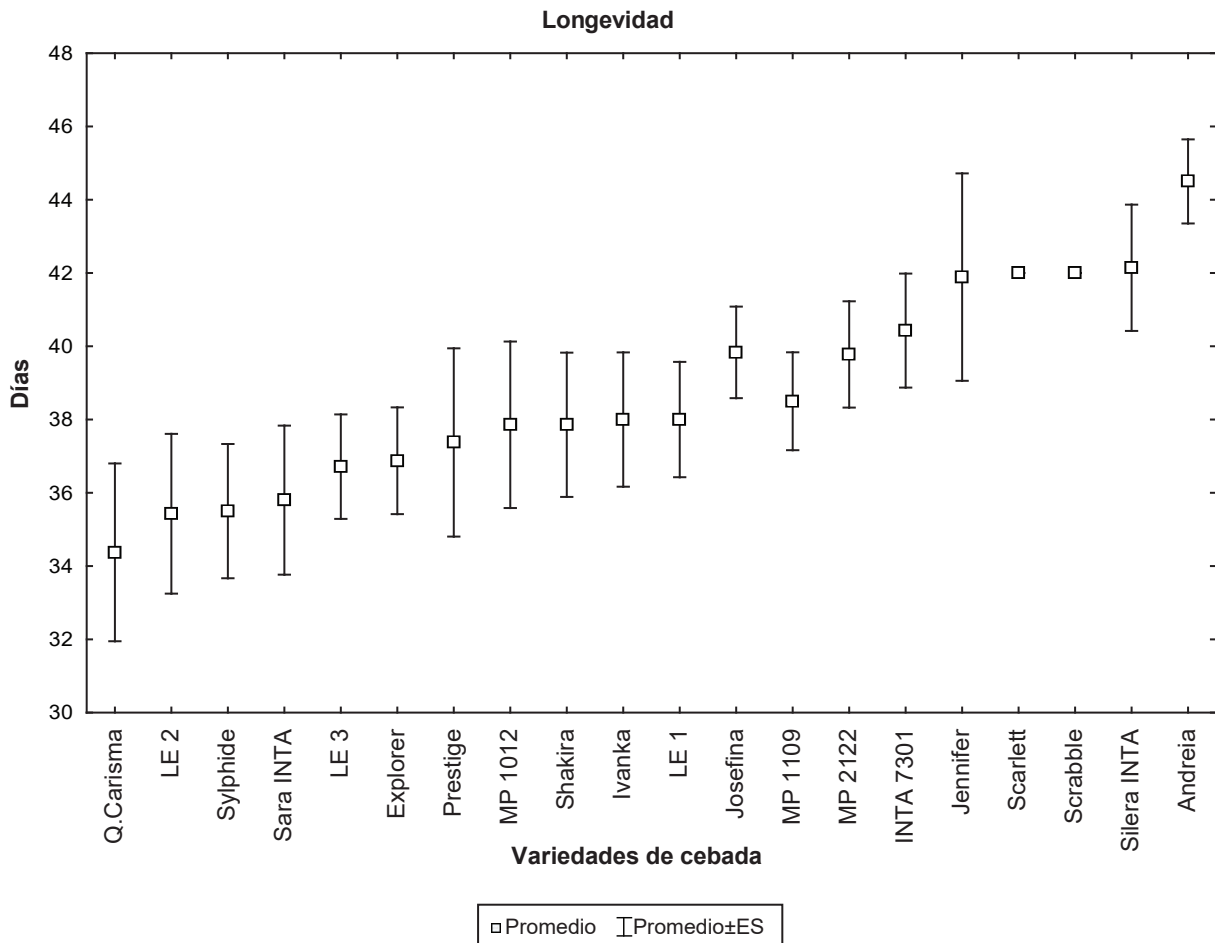


Figura 3. Longevidad (días) de *Schizaphis graminum* en variedades de cebada.

de los áfidos no fueron las mismas que condicionaron menor fecundidad, a excepción de Sylphide y Sara INTA que podrían ser clasificadas como antibióticas (figuras 3 y 4).

La variedad Sylphide, además de ser antibiótica, fue clasificada como tolerante con valores de índice de peso seco e índice de clorofila superior a otros cultivares.

CONCLUSIONES

Entre las variedades comerciales y líneas experimentales de cebada cervecera evaluadas existe variabilidad en la respuesta al ataque del pulgón verde de los cereales. Dicha variabilidad permite identificar genotipos con niveles aceptables de resistencia. Entre ellos (Q. carisma), Sunshine, Sylphide y LE 3 fueron las que manifestaron mayor tolerancia a la alimentación del áfido y a su vez, Sylphide presentó características de antibiosis. Sin embargo, en la actualidad el panorama varietal se encuentra dominado por cultivares con alto potencial de rendimiento y calidad como son Andrea (40%), Shakira (35%) y Scarlett (10%),

las cuales han sido caracterizadas como susceptibles o moderadamente susceptibles. Por lo tanto, de presentarse condiciones favorables para el avance de esta plaga, casi la totalidad de la superficie sembrada con cebada podría ser afectada. Esto pone de manifiesto la importancia de conocer la resistencia de un genotipo a una determinada plaga ya que puede condicionar la elección de las variedades para sembrar, especialmente en aquellas regiones en las cuales esa plaga genera pérdidas o puede ser un potencial problema. En consecuencia, la información generada en este estudio representa un insumo directo para implementar en los programas de mejoramiento de cebada, a través de cruzamientos específicos en la futura búsqueda de cultivares competitivos con resistencia al pulgón verde de los cereales.

Además, cabe destacar que los resultados obtenidos en el presente trabajo representan la primera aproximación a nivel fenotípico de la respuesta de genotipos de cebada registrados en Argentina frente al ataque del pulgón verde de los cereales, que representan la totalidad del área sembrada con dicho cultivo.

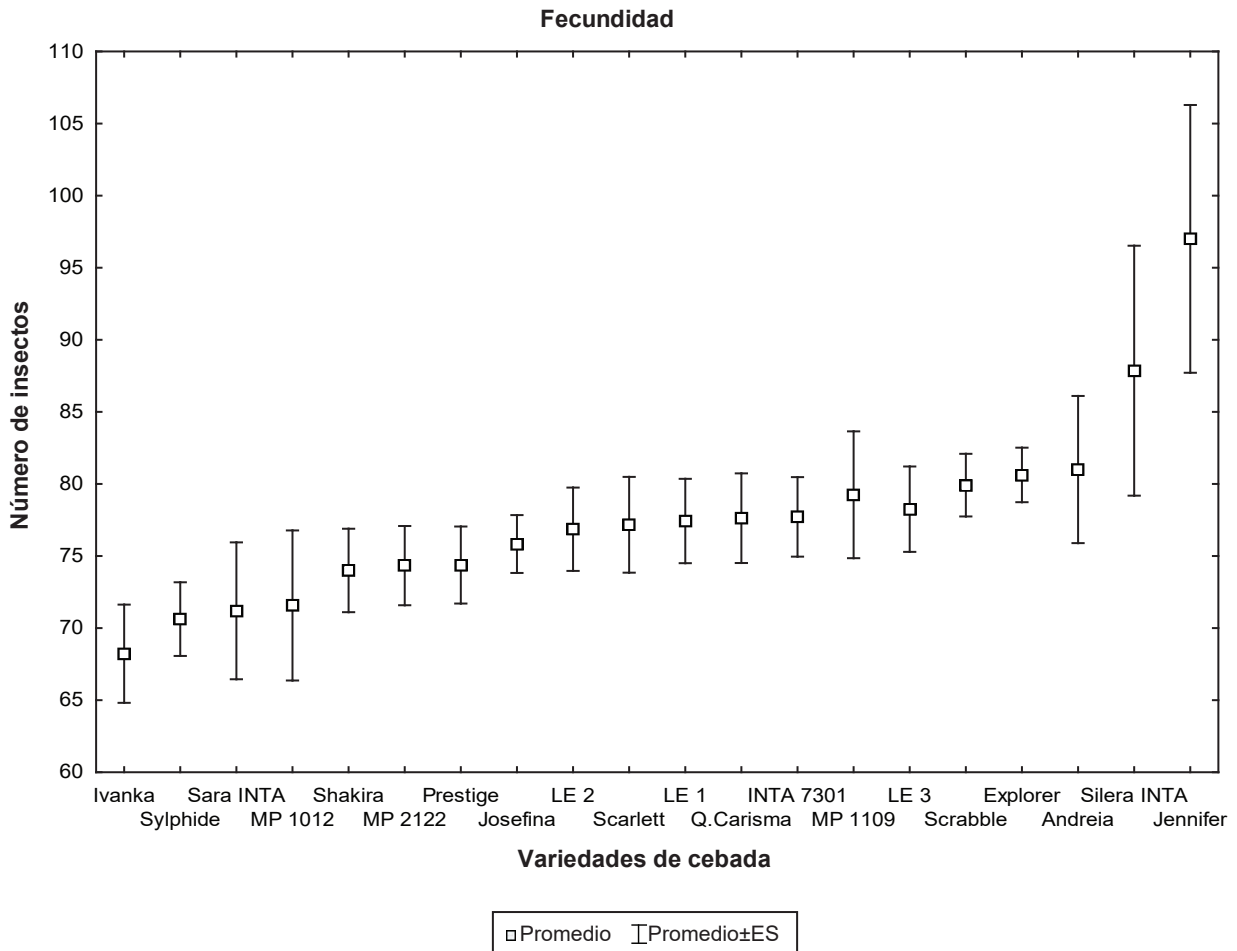


Figura 4. Fecundidad (número de ninfas producidas por hembra) de *Schizaphis graminum* en variedades de cebada.

BIBLIOGRAFÍA

ABELED0, L.G.; MIRALLES, D.J. 2011. ¿Qué cambios presentaron en los últimos años los sistemas de producción de trigo y cebada en Argentina? En: VALLE, S.; LIZANA, C.; CALDERINI, D.F. (Eds.). *Sistemas de Producción de Trigo y Cebada*. Editorial Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. 39-54 pp.

BURD, J.D.; BURTON, R.L. 1992. Characterization of plant damage caused by Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology* 85 (5) 2017-2022.

BURD, J.D.; BUTTS, R.A.; ELLIOTT, N.C.; SHUFRAN, K.A. 1998. Seasonal development, overwintering biology, and host plant interactions of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) in North América. En: QUISENBERRY, S.S.; PEAIRS, F.B. (Eds.). *A response model for an introduced pest-the Russian wheat aphid*. Thomas Say Proceedings: Publications in Entomology. Entomological Society of America, Lanham, MD. 65-69.

CATTANEO, M. 2016. Evolución del cultivo de cebada en Argentina. VIII Congreso Nacional de Trigo. VI Simposio de Cereales de Siembra Otoño-Invernal. II Reunión del Mercosur. Pergamino (Disponible: <http://www.congresodetrigo.com.ar/presentaciones/dia1auditorio/CATTANEO-CN.pdf> verificado: 17 de marzo de 2017).

CONTI, V.A.; MOREYRA F.; GONZALEZ, G.A.; VALLATI, A.R.; GIMENEZ, F.J. 2016. Red nacional de cebada cervecera, campaña 2015. (Disponible: <http://inta.gob.ar/documentos/red-nacional-de-cebada-cervecera-%E2%80%93-campana-2015> verificado: 17 de marzo de 2017).

DUGHETTI, A. 2012. Pulgones: Clave para identificar las formas ápteras que atacan a los cereales. RIAN, Red de información agropecuaria nacional. INTA y Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. 44 pp.

FLINN, M.; SMITH, C.M.; REESE, J.C.; GILL, B.S. 2001. Categories of resistance to greenbug (Homoptera: *Aphididae*) biotype I in *Aegilops tauschii* germplasm. *Journal of Economic Entomology* 94: 558-563.

INASE. 2017. Listado de Cultivares - Registro Nacional de Cultivares del Instituto Nacional de Semillas. (Disponible: <http://www.inase.gov.ar/consultaGestion/gestiones/index/page:3> verificado: 17 de marzo de 2017).

KIECKHEFER, R.W.; KANTACK, B.H. 1986. Yield losses in spring barley caused by cereal aphids (Homoptera: Aphididae) in South Dakota. *Journal of Economic Entomology*, 79, 749-752.

KOGAN, M.; ORTMAN, E.F. 1978. Antixenosis. A new term proposed to define Painter's "Non-preference" modality of resistance. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 24: 175-176.

LAGE, J.; SKOVMAND, B.; ANDERSEN, S.B. 2003. Expression and suppression of resistance to greenbug (Homoptera: Aphididae) in synthetic hexaploid wheats derived from *Triticum dicoccum* x *Aegilops tauschii* crosses. *Journal of Economic Entomology*. 96: 202-206.

PAINTER, R.H. 1951. *Insect Resistance in Crop Plants*. The McMillan Co. Nueva York. 151.

TOCHO, E.; MARINO DE REMES LENICOV, A.; CASTRO A.M. 2012. Evaluación de la resistencia a *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae) en cebada. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 71 (1-2): 01-10.

RONDANI, C. 1852. Sulla Specie d'insetto volante in gran quantità nella città di Parma. *Gazzetta de Parma, Appendice* (Dispo-

nibile: <http://www.itg-rondani.it/> verificado: 17 de marzo de 2017).

STATSOFT INC. 2011. *Statistica* (data analysis software system), version 10. (Disponible: www.statsoft.com verificado: 17 de marzo de 2017).

WEBSTER, J.A.; KENKEL, P. 1991 Benefits of managing small-grain pests with plant resistance. En: WISEMAN, B.R.; WEBSTER, J.A. (Eds.). *Proceedings, Thomas Say Publications in entomology*. Entomological Society of America. Lanham, MD, 87-114 pp.

WENG, Y.; LAZAR, M.D. 2002. Amplified fragment length polymorphism and simple sequence repeat-based molecular tagging and mapping of greenbug resistance gene Gb3 in wheat. *Plant Breeding* 121:218-223.

Actividad forrajera de *Acromyrmex striatus* (Roger, 1863) (Formicidae: Attini) en un viñedo orgánico en Mendoza, Argentina

DAGATTI, C.V.¹; BERNABÉ, A.L.²; ROSSI, L.³; BECERRA, V.C.¹

RESUMEN

Las hormigas cortadoras se convierten en plagas agrícolas, debido a su habilidad de utilizar especies vegetales como sustrato para el desarrollo del hongo simbiote que constituye su alimento. Los objetivos de este trabajo fueron describir la composición de la dieta de *Acromyrmex striatus*, conocer preferencias de la dieta de acuerdo a la oferta vegetal presente y lograr un aporte al manejo de la plaga en el cultivo de la vid. El estudio se realizó en un viñedo con manejo orgánico. Se colectaron los fragmentos transportados por las obreras de *A. striatus*. Los datos fueron tomados estacionalmente durante un año en un total de 16 colonias activas. El material colectado fue clasificado en material verde o seco y en monocotiledóneas o dicotiledóneas, además se registró la cantidad y el peso de fragmentos colectados. Los resultados indicaron que *A. striatus* colectó más fragmentos en los meses de verano. Predominó la colecta de monocotiledóneas y prefirieron el material vegetal verde en todas las estaciones estudiadas. Por lo tanto, se podría concluir que el uso de abono verde en los interfilares podría ser un recurso para el manejo de *A. striatus* en el viñedo, siempre y cuando estas especies vegetales no compitan con el cultivo.

Palabras clave: forrajeo, hormigas cortadoras, viñedo orgánico.

ABSTRACT

Leaf cutting ants become pests due to their ability to use herbaceous plants as a substrate for the symbiotic fungus development. The objectives of this work were to describe *A. striatus* diet composition, to know vegetal resources preferences, and contribute to the vine pest management. The study was conducted in an organic vineyard. The fragments transported by *A. striatus* workers were collected for 5 minutes. Samples were taken seasonally for a year in 16 active colonies. The material was classified according to quantity, weight, type and green or dry material. The results indicated that *A. striatus* collected more fragments in the summer months. The collection of monocotyledons predominated and they preferred the green plant material in all the stations studied. Therefore, it could be concluded that the use of green manure in the interfilar could be a resource for the management of *A. striatus* in the vineyard, as long as these plant species do not compete with the crop.

Keywords: foraging, leaf cutting ants, organic vineyard.

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Mendoza, San Martín 3853, Luján de Cuyo (5507), Mendoza, Argentina. Correo electrónico: dagatti.carla@inta.gob.ar

²Universidad del Aconcagua, Mendoza, Argentina.

³Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ingeniería, Mendoza, Argentina.

INTRODUCCIÓN

Históricamente, la viticultura argentina, en especial en Mendoza, sufría muy bajo daño por insectos (Becerra, 2001) en comparación con los viñedos de otros países. En California, Estados Unidos, este cultivo sufre la incidencia de plagas como *Erythroneura elegantula* y *E. variabilis* (Hemiptera:Cicadellidae), *Platynota stultana* (Lepidoptera: Tortricidae), *Desmia funeralis* (Lepidoptera: Crambidae), *Argyrotaenia citrana* (Lepidoptera: Tortricidae), *Harrisina brillians* (Lepidoptera: Zygaenidae), *Pseudococcus maritimus* (Hemiptera: Pseudococcidae), *Dactylospheera vitifoliae* (Hemiptera: Phylloxeridae), entre otras (Flaherty *et al.*, 1981). En Chile, se cita la presencia de *Brevipalpus chilensis* (Acarina: Tenuipalpidae), *Naupactus xantographus* (Coleoptera: Curculionidae), *Depanothrips reuteri* y *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae), *Parthelonecanium persicae* (Hemiptera: Coccidae), *Pseudococcus viburni* y *Panococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae) como las plagas más importantes en los viñedos (Prado, 1991) junto con la polilla de la vid, *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) (Gilligan *et al.*, 2011). En Mendoza, en los últimos años, han surgido plagas que hoy producen daños económicos relevantes, como *Planococcus ficus* Signoret y la recientemente detectada *Lobesia botrana* Denis & Schiff. Sin embargo, a pesar de no ser una plaga primaria, un problema recurrente que plantean los productores agroecológicos es el control orgánico de las hormigas cortadoras de hojas. La defoliación completa de plantas que provocan es grave en viñedos jóvenes que colindan con monte nativo o en aquellos establecidos luego del desmonte de la vegetación autóctona, aunque esto también se observa en zonas con varios años de cultivo y plantas en plena producción.

Los cultivos de cobertura son utilizados dentro del manejo de suelo en viñedos orgánicos como una herramienta ambientalmente sostenible para incrementar el contenido de materia orgánica y de nutrientes en el suelo, mejorar las propiedades físicas como porosidad, estructura, y estabilidad de los agregados, incrementar la capacidad de retención de humedad y la capacidad de intercambio catiónico del suelo, reducir el escurrimiento del agua y evitar la erosión e incrementan la actividad biológica en el suelo (Frye y Blevins, 1989; Uliarte, 2013). Una ventaja adicional en el cultivo de la vid es que contribuyen a la disminución de daños por hormigas cortadoras de hojas (Uliarte, 2017, comunicación personal).

Las hormigas cortadoras o podadoras pertenecen a los géneros *Atta* Fabricius y *Acromyrmex* Mayr clasificados dentro de la tribu Attini (Myrmicinae), que agrupa 10 géneros más, cuyas especies son todas cultivadoras de hongos y exclusivas de América (Hölldobler y Wilson, 1990).

En Argentina, el género *Acromyrmex* está ampliamente distribuido en toda la región árida y semiárida (Kusnezov, 1956) desde el norte hasta los 44° S en la región norte de la Patagonia y altitudinalmente, por debajo de los 2500 m en Los Andes (Kusnezov, 1963; Claver, 2000). Por su parte, el género *Atta* se encuentra en el norte de Argentina y hacia el sur hasta el sur de Santa Fe y el norte de Córdoba y La

Rioja (Kusnezov, 1956). En Mendoza se cita únicamente *Acromyrmex* sp. (Kusnezov, 1956) dentro de la tribu Attini, la cual actúa como cortadora de material verde en primavera y como recolectora de material seco en invierno, utilizando ambas modalidades en verano y otoño (Claver, 2000). *Acromyrmex striatus* Roger es endémica de América del Sur. En Argentina se distribuye en la región árida y semiárida entre las provincias de Jujuy (22° S) y Río Negro (42° S) (Kusnezov, 1956; Bonetto, 1959). Las colonias presentan actividad de forrajeo en los días cuyas temperaturas superan los 20 °C y cortan vegetación rastrera y arbustiva baja, especialmente gramíneas (Diehl-Fleig, 1995). *Acromyrmex striatus* se especializa en recoger hojas secas caídas (Claver, 2000). Según Lopes (2005), *A. striatus* se especializa en cortar asteráceas, gramíneas y leguminosas. La actividad forrajera sigue una secuencia rítmica diaria en la que se alternan periodos con y sin actividad. También en ellos se observa que la intensidad de la actividad forrajera varía entre las distintas estaciones del año, llegando a su máximo valor en primavera y al mínimo en invierno (Claver, 2000). De acuerdo con Nobua Behrmann (2014), *A. striatus* forrajea a temperaturas de entre 27-45 °C y durante los meses más calurosos se encuentra activa durante el día.

Las especies anteriormente mencionadas pueden convertirse en plagas agrícolas debido a su habilidad de utilizar gran cantidad de especies vegetales y a que el hongo del cual se alimentan tiene la capacidad de desarrollarse sobre múltiples sustratos. La mayoría consume solo dicotiledóneas, una proporción menor, monocotiledóneas y unas pocas especies usan ambas. De las 24 especies de *Acromyrmex*, 16 son consumidoras de dicotiledóneas, 5 de monocotiledóneas y 3 de ambas. Estas preferencias estarían determinadas en gran medida por la disponibilidad de los recursos, las especies que viven en bosques o selvas usan casi exclusivamente dicotiledóneas como sustrato para el hongo que cultivan, mientras que las especies que viven en hábitats abiertos cortan indistintamente monocotiledóneas o dicotiledóneas. Además estas hormigas tienen la capacidad de alcanzar densidades de colonias muy altas (Claver, 2000). En varios países latinoamericanos en plantaciones de pinos y de eucaliptos se han registrado importantes daños causados por la actividad forrajera de las hormigas cortadoras (Della Lucia y Oliveira, 1993). Además de los perjuicios directos relacionados con la reducción en la productividad del cultivo implantado, los costos asociados con el control de las hormigas cortadoras son también importantes (Perez, 2009). En la Argentina, si bien sus perjuicios en diversos cultivos son importantes, existe poca información sobre la cuantificación de daños en bosques, sabanas y agroecosistemas (La Rossa, 2007).

Debido a la demanda continua de los viticultores, principalmente orgánicos, y a que existen escasos antecedentes locales de la composición de las dietas de las especies de hormigas cortadoras de hojas, los objetivos de este trabajo fueron describir la composición de la dieta de *A. striatus*, conocer las preferencias de los recursos vegetales de acuerdo a la oferta vegetal presente en los viñedos orgánicos y lograr un aporte al manejo de la plaga en viñedos orgánicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en un viñedo orgánico situado en la Estación Agropecuaria Mendoza INTA (33°00'29''S y 68°51'09,93''O) en la temporada 2014-2015. Se trata de una parcela de 2,8 ha de extensión de cv Cabernet Sauvignon con manejo orgánico y biodinámico implantado en el año 1994. Presenta un espaciamiento de 1,5 m entre plantas y 2,5 m entre hileras. El cultivo posee riego superficial por melgas sin pendiente en el sentido de las hileras.

Se colectaron durante 5 minutos todos los fragmentos transportados hacia los hormigueros por las obreras de *A. striatus* en los meses de otoño, primavera y verano, quincenalmente en un total de 16 colonias activas tomadas al azar. No se colectó material vegetal en invierno ya que la actividad forrajera de las hormigas es casi nula. El material colectado fue separado y clasificado por:

- Cantidad y peso de fragmentos acarreados por estación.
- Material verde o seco: los fragmentos vegetales fueron agrupados en verdes o secos suponiendo que el verde fue cortado directamente de la planta y el seco recogido. Monocotiledóneas o dicotiledóneas.

Luego de ser clasificado, el material acarreado colectado fue secado en estufa a 70 °C durante 48 h y pesado.

Los datos obtenidos de cantidad y peso de los fragmentos colectados, material verde o seco y monocotiledóneas o dicotiledóneas acarreado en las tres estaciones fueron analizados empleando el métodos no paramétrico Mann-Whitney-Wilcoxon y utilizando como soporte para su cálculo el software estadístico R Core Team (2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cantidad y peso de fragmentos vegetales acarreados

En otoño y primavera se colectaron 354 y 355 fragmentos, respectivamente, la cantidad mínima de fragmentos acarreados por las hormigas fue igual a 1 y la máxima, igual a 15 en los meses de otoño y de 1 y 21 en primavera. Esto puede deberse a que la mayoría de las colonias en estas dos estaciones se encontraban realizando tareas de mantenimiento y limpieza al momento de la toma de muestras. El número de fragmentos colectados varió en un 66,55% en otoño y en un 56,79% en primavera. El 50% de las co-

lectas realizadas en otoño fue de al menos 4 fragmentos, mientras que en primavera el 50% de las colectas estuvo compuesta por 7 fragmentos o menos. A diferencia de lo observado en estas dos estaciones, en verano la actividad forrajera fue superior (1060 fragmentos). La cantidad mínima de colectas fue de 3 y la máxima de 22. El coeficiente de variación en verano fue de 38,85%. La cantidad de fragmentos acarreados por colecta también fue superior en verano, ya que el 50% de las colectas estuvo compuesta por al menos 11 fragmentos. Estos resultados coinciden con los de Nobua Behrmann (2014), quien observó que las colonias de *A. striatus* se encontraban activas principalmente en verano. Respecto al peso, en primavera el 50% de las colectas pesaron más que los fragmentos acarreados en otoño y en primavera (tabla 1).

Material verde y seco

La cantidad de fragmentos verdes colectados fue mayor que la de secos en las tres estaciones del año estudiadas ($p < 0,05$). Del total del material acarreado por *A. striatus* hacia los nidos en otoño el 58% correspondió a material verde. En primavera este porcentaje resultó de 59%, mientras que en verano colectaron un 65% de material vegetal verde (figura 1). Estos resultados difieren a los encontrados por Pilati *et al.* (1997) para *A. lobicornis* en La Pampa. Claver (2000) en la Reserva de Ñacuñán en Mendoza estudió la dieta de *A. lobicornis* y concluyó que en los meses de primavera y verano, esta especie acarrea en mayor proporción material verde y en otoño forrajeaba más material seco. Así mismo, a diferencia de lo observado en este trabajo, Claver (2000) asegura que *A. striatus* se especializa en recoger hojas secas caídas.

Uso de monocotiledóneas y dicotiledóneas

En todas las estaciones la cantidad de fragmentos de monocotiledóneas acarreada por *A. striatus* hacia los nidos fue mayor que la de dicotiledóneas ($p < 0,05$). La colecta de monocotiledóneas siempre fue superior al 65% (figura 2). Por lo tanto, se podría decir que se trata de una especie que utiliza tanto monocotiledóneas como dicotiledóneas. Por su parte, Dieh-Fleig (1995) aseguró que *A. striatus* corta vegetación rastrera, principalmente monocotiledóneas. En 2007, Armani y Quirán registraron el predominio de la colecta de monocotiledóneas para *A. lobicornis* en La Pampa.

	Estación		
	Otoño	Primavera	Verano
Cantidad total de fragmentos acarreados	355	354	1060
Cantidad mínima y máxima de fragmentos acarreados por colecta	1 - 15	1 - 21	3 - 22
Cantidad de fragmentos acarreados en el 50% de las colectas	≤ 4	≤ 7	≤ 11
Peso (g) de los fragmentos colectados en el 50% de las colectas	≤ 0,01065	≤ 0,0336	≤ 0,009

Tabla 1. Cantidad y peso de fragmentos acarreados por *A. striatus* hacia los nidos.

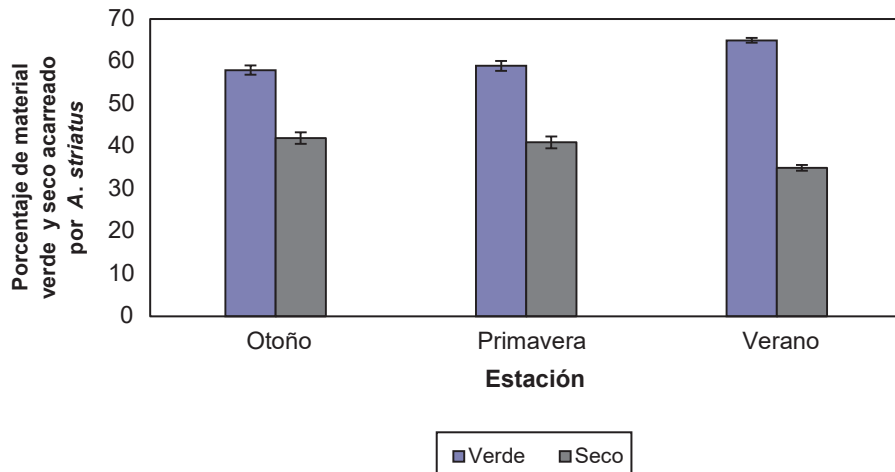


Figura 1. Porcentaje de material verde y seco (+ EE) acarreado por *A. striatus* hacia los nidos en todas las estaciones estudiadas. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

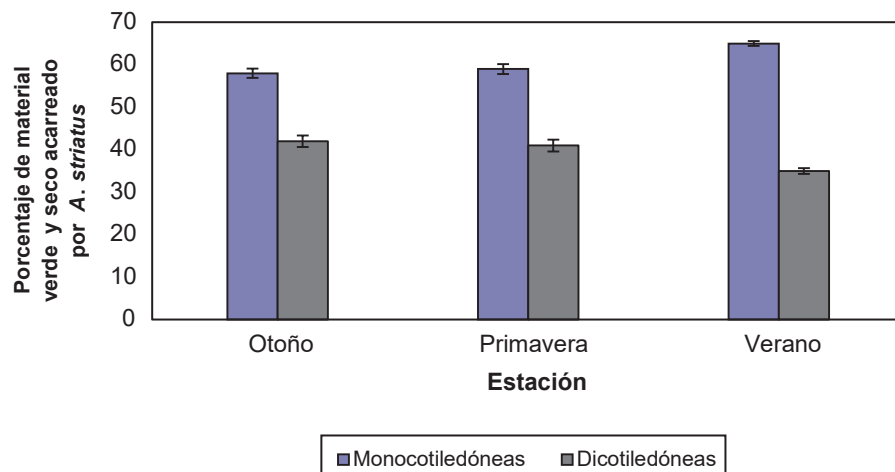


Figura 2. Porcentaje de monocotiledóneas y dicotiledóneas (+EE) acarreado por *A. striatus* hacia los nidos en todas las estaciones estudiadas. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

CONCLUSIÓN

En este trabajo se describe la composición del material vegetal acarreado por *Acromyrmex striatus* hacia los nidos y sus preferencias según la oferta disponible.

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que *A. striatus* prefiere el forrajeo de material verde hacia los nidos y si bien acarrea tanto monocotiledóneas como dicotiledóneas a lo largo del año, predomina la colecta de las primeras. Es decir que podría decirse que se trata de una especie cortadora de monocotiledóneas principalmente. Por consiguiente, a pesar de representar un riesgo potencial para el cultivo de la vid, si este presenta oferta de

abono verde en sus interfilares, el daño provocado por esta hormiga cortadora no sería tan significativo, así como tampoco los costos asociados al control de estas. Por lo tanto, de acuerdo a este estudio, podría concluirse que el uso de abono verde en los interfilares podría ser un recurso para el manejo de *A. striatus* en el viñedo, siempre y cuando estas especies vegetales no compitan con el cultivo.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. E. Martín Uliarte por los aportes realizados para la mejora de este trabajo y a la Ing. M. Eugenia Herrera por las lecturas y correcciones efectuadas.

BIBLIOGRAFÍA

- ARMANI, A.; QUIRÁN, E. 2007. Evaluación cualitativa y cuantitativa de la oferta y cosecha de biomasa herbácea por *Acromyrmex striatus* Roger (Hymenoptera: Formicidae) en la provincia de La Pampa, Argentina. *Gayana* 71 (2), 203-206.
- BECERRA, V. 2001. Residuos de pesticidas en el cultivo de la vid. *Revista de información sobre investigación y desarrollo agropecuario*. IDIA XXI (1): 57-59.
- BONETTO, A.A. 1959. Las hormigas cortadoras de la Provincia de Santa Fe (Gén. *Atta* y *Acromyrmex*). Ministerio de Agricultura y Ganadería de Santa Fe. Dirección de Recursos Naturales. Santa Fe, Argentina.
- CLAVER, S. 2000. Ecología de *Acromyrmex lobicornis* (Hymenoptera: Formicidae) en la Reserva de Biosfera de Ñacuñán, provincia Biogeográfica del Monte. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- DELLA LUCIA, T.M.C.; DE OLIVEIRA, M.A. 1993. As Formigas Cortadeiras. Forrageamento De Folha de Vicoça, Minas Gerais, Brasil. 262 p.
- DIEHL-FLEIG, E. 1995. Formigas: organização social y ecología comportamental. Editorial Unisinos. Sao Leopoldo, Brasil. 168 p.
- FLAHERTY, D.L.; JENSEN, F.L.; KASIMATIS, A.N.; KIDO, H.; MOLLER, W.J. 1981. Grape pest management. Agricultural Sciences Publications, University of California, EUA. 312 p.
- FRYE, W.W.; BLEVINS, R.L. 1989. Economically sustainable crop production with legume cover crops and conservation tillage. *Journal of soil and water conservation*, 44(1), 57-60.
- GILLIGAN, T.; EPSTEIN, M.; PASSOA, S.; POWELL, J.; OBEDICH, S.; BROWN, J. 2011. Discovery of *Lobesia botrana* (Denis & Shiffermuller) in California: An invasive species new to North America (Lepidoptera: Tortricidae). *Entomological Society of Washington* 113 (1): 14-30.
- HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. 1990. The ants. Cambridge, Mass, Harvard University Press. EUA. 732 p.
- KUSNEZOV, N. 1956. Claves para la identificación de las hormigas de la fauna argentina. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Argentina. 33 p.
- KUSNEZOV, N. 1963. Zoogeografía de las hormigas de Sudamérica. *Acta Zoológica Lilloana* 19, 25-186.
- LA ROSSA, R. 2007. Problemas de plagas en la Argentina. RS Lavado y E. Frusso. Producción de pecán en Argentina. (Disponible: <http://uniciencia.ambientalex.info/infoCT/Proplaar.pdf> verificado: 13 de diciembre de 2016).
- LOPES, B. 2005. Recursos vegetales usados por *Acromyrmex striatus* (Roger) (Hymenoptera: Formicidae) em restringa da Praia da Joaquina, Florianopolis, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 22 (2), 372-382.
- NOBUA BEHRMANN, B.E. 2014. Interacciones tróficas entre dos especies simpátricas de hormigas cortadoras y el ensamble de plantas en el Monte central. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- PEREZ, S. 2009. Riesgo potencial de la hormiga cortadora de hojas *Acromyrmex lobicornis* para las plantaciones forestales de la Patagonia. Ediciones INTA, Argentina. 15 p.
- PILATI, A.; QUIRÁN, E.; ESTELRICH, H. 1997. Actividad forrajera de *Acromyrmex lobicornis* Emery (Hymenoptera: Formicidae) en un pastizal natural semiárido de la provincia de La Pampa (Argentina). *Ecología Austral* 7, 49-56.
- PRADO, E. 1991. Artrópodos y sus enemigos naturales asociados a plantas cultivadas en Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. *Boletín Técnico* 169, 207 p.
- R CORE TEAM. 2017. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- ULIARTE, E.M. 2013. Especies herbáceas nativas: aportes para su cultivo como coberturas vegetales en viñedos bajo riego en Mendoza. Tesis doctoral. Facultad de ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba.

Tendencias y equitatividad de los principales cultivos extensivos en el centro de la provincia de Buenos Aires

BOCCHIO, V.¹; REQUESENS, E.²; MESTELAN, S.²

RESUMEN

Los procesos de expansión agrícola y pérdida de diversidad productiva han sido vinculados con un aumento de costos ambientales en términos de degradación del suelo, contaminación de agua y aire, pérdida de biodiversidad y deterioro de servicios ecológicos esenciales. El presente trabajo plantea como objetivo analizar tales procesos en un sector del centro de la provincia de Buenos Aires dominado por el sistema orográfico de Tandilia. El área de estudio, integrada por los partidos de Azul, Benito Juárez, Olavarría y Tandil, contiene terrenos ondulados periserranos y planicies interserranas que concentran la mayor parte de la actividad agrícola, rodeados por ambientes con limitaciones para la agricultura correspondientes a la Pampa deprimida. El estudio se basó en datos de siembra de los principales cultivos de la región aportados por el Sistema Integrado de Información Agropecuaria del Ministerio de Agroindustria de la Nación. Los cultivos seleccionados fueron trigo, maíz, girasol, soja, cebada cervecera y avena. Se analizaron 20 campañas a partir de mediados de los 90, momento en que el lanzamiento de la soja transgénica aceleró notablemente la expansión agrícola en el país. Las principales variables analizadas fueron la superficie destinada a los diferentes cultivos en cada campaña y la diversidad productiva asociada al número y superficie relativa de estos últimos. Dado que el número de cultivos fue establecido previamente en virtud de su relevancia regional, la diversidad productiva fue estimada por el índice de equitatividad de Shannon (J') a fin de evaluar exclusivamente el grado de uniformidad entre las superficies relativas de los cultivos analizados. La superficie conjunta de estos últimos registró un incremento de 93% durante el periodo de estudio. Este incremento fue acompañado por diferentes dinámicas entre los cultivos analizados, destacándose el reemplazo de trigo por soja como cultivo dominante. A pesar de estos cambios, la equitatividad se mostró como una variable relativamente estable con valores elevados que oscilaron entre $J' = 0,76$ y $J' = 0,86$. Estos resultados y su discusión en términos de las relaciones entre heterogeneidad ambiental, biodiversidad y sustentabilidad fundamentan la conveniencia de conservar y de ser posible elevar aún más los niveles de equitatividad registrados para el área de estudio. Esto último podría lograrse a partir de una mayor participación relativa de cultivos no dominantes, recomendándose especialmente aquellos que como maíz y trigo presentan mejores balances de carbono en el suelo con respecto a la soja.

Palabras clave: superficie cultivada, cultivos dominantes, diversidad planeada.

ABSTRACT

The processes of agricultural expansion and loss of productive diversity have been linked to an increase in environmental costs in terms of soil degradation, water and air pollution, loss of biodiversity and deterioration of essential ecological services. This study aims to analyze such processes in a sector of the center of the Buenos Aires province, dominated by the orographic system of Tandilia. The study area comprises the coun-

¹Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires. Correo electrónico: bocchio.veronica@gmail.com

²Universidad Nacional de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Facultad de Agronomía, Azul, Buenos Aires. Correo electrónico: erequese@faa.unicen.edu.ar y mestelan@faa.unicen.edu.ar

ties of Azul, Benito Juárez, Olavarría and Tandil, it has rolling piedmont terrains around the sierras, and inter sierras plains that concentrate most of the agricultural activity, surrounded by environments with soil limitations for agriculture corresponding to the Depressed Pampa. The study was based on data of sowing area of the main crops of the region contributed by the Integrated System of Agricultural Information of the Ministry of Agriculture and Industry of Argentina. Information analyzed corresponds to wheat, corn, sunflower, soybean, brewing barley and oats. Twenty growing seasons (campaigns) were analyzed, starting in the mid-1990s, when the launch of transgenic soy accelerated the agricultural expansion in the country. The main variables analyzed were the area allocated to the different crops in each season and the productive diversity associated with the number and relative area of the latter. Given that the number of crops was previously established by virtue of their regional relevance, the productive diversity was estimated by the Shannon Equitability Index (J') in order to evaluate exclusively the degree of uniformity among the relative surfaces of the crops analyzed. The combined surface of the studied crops registered an increase of 93% during the study period. This increase was accompanied by different dynamics among the surveyed crops, highlighting the replacement of wheat by soybean as the dominant crop. Despite these changes, equitability was shown as a relatively stable variable with high values that ranged between $J'= 0.76$ and $J'= 0.86$. These results and their discussion in terms of the relationships among environmental heterogeneity, biodiversity and sustainability, support the convenience of conserving and, if possible, further increasing the levels of equity registered for the study area. The latter could be achieved from a greater relative participation of non-dominant crops, especially those that, like corn and wheat, have a better soil carbon balance as compared to soybeans.

Keywords: Sown area, dominant crops, planned diversity.

INTRODUCCIÓN

En Argentina, la expansión de la frontera agrícola a partir de mediados del siglo pasado abarcó varias ecorregiones del centro, este y norte del país (Viglizzo *et al.*, 2010). Este proceso, impulsado por claros beneficios económicos a nivel empresarial y sectorial (Puechagut, 2012), estuvo acompañado por una pérdida de diversidad productiva (Aizen *et al.*, 2009) y conlleva un aumento de costos ambientales (Matson *et al.*, 1997; FAO, 2007; Viglizzo, 2008). A su vez, el auge del modelo sojero condujo a una homogenización espacial y temporal de los paisajes agrícolas debido a la siembra de pocas especies con base genética estrecha y la aplicación de estrategias estandarizadas para el manejo de adversidades bióticas (Benton *et al.*, 2003; Sarandon, 2014). En los últimos años, más de la mitad de la superficie sembrada corresponde a soja, y más del 90% de este cultivo se basa en semilla transgénica que, junto con el herbicida glifosato y la siembra directa, conforman un paquete tecnológico de amplia difusión en nuestro país.

La diversidad productiva es aquella que se incorpora al sistema por decisión del agricultor y varía de acuerdo a las estrategias de manejo. Se la denomina diversidad planeada e integra la diversidad biológica agrícola, o agrobiodiversidad, junto con la "diversidad asociada" que comprende todos los demás organismos del agroecosistema cuya presencia se encuentra condicionada por la estructura y manejo de este, pero no requiere de la intervención directa del hombre (Stupino *et al.*, 2014). En este sentido, la

agrobiodiversidad y el agroecosistema son complementarios e interdependientes. Por un lado, la agrobiodiversidad constituye un importante recurso capaz de brindar servicios ecológicos imprescindibles para el buen funcionamiento de los agroecosistemas (Martín-López y Montes, 2011; Nieto Rodríguez, 2017); mientras que la implementación de prácticas basadas en principios ecológicos promueve y refuerza la agrobiodiversidad y con ello la sustentabilidad de los sistemas productivos (Sarandón, 2014). Contrariamente, la simplificación estructural y la intensificación funcional de los ecosistemas para la producción agrícola tienden a generar pérdida de biodiversidad. Esta pérdida desestabiliza a los agroecosistemas, disminuye su eficacia en muchas de las funciones beneficiosas y debilita las defensas frente a diversas catástrofes naturales (FAO, 2007; Sans *et al.*, 2013).

Dentro de la región Pampeana, los patrones de expansión agrícola y la susceptibilidad del ambiente presentan características particulares en las distintas subregiones (Viglizzo *et al.*, 2010). El centro de la provincia de Buenos Aires, en particular, incluye ambientes favorables para la agricultura en las llanuras periserranas del sistema de Tandilia, las cuales ocupan parcialmente los partidos de Tandil, Azul, Benito Juárez y Olavarría. Estudios basados en muestras de establecimientos ubicados en estas áreas evidencian procesos de expansión y cambios de cultivos dominantes encuadrados en las tendencias generales, pero no registran una pérdida de diversidad productiva (Requesens y Silva, 2011; Seehaus y Requesens, 2014).

Estos trabajos resultan útiles para conocer los cambios en la estructura productiva y discutir sus probables consecuencias sobre la sustentabilidad de los agroecosistemas. Sin embargo, la posibilidad de generalizar sus resultados a toda la región presenta dos limitaciones importantes: 1) representan una mínima fracción de la superficie total, y 2) no incluyen los ambientes con menor aptitud agrícola correspondientes a la Pampa deprimida que, de acuerdo a Morello *et al.* (2000), complementan en mayor o menor medida el territorio de los cuatro partidos mencionados.

En este contexto, el presente trabajo plantea como objetivo analizar globalmente las tendencias de la superficie sembrada y la diversidad planeada de los principales cultivos en el centro bonaerense, y discutir sus probables consecuencias desde una perspectiva agroecológica. Para ello se recurrió a datos integrados por partido provenientes de estadísticas agrícolas oficiales. El periodo de estudio abarcó un intervalo de 20 años a partir de mediados de los 90, momento en que el lanzamiento de los cultivares transgénicos de soja en Argentina aceleró notablemente la tasa de expansión de este cultivo en el país (Requesens, 2014).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El área de estudio abarca un sector del centro de la provincia de Buenos Aires integrado por los partidos de Azul, Benito Juárez, Olavarría y Tandil. Comprenden en conjunto 2455000 ha, equivalentes a 8% de la superficie total de la provincia. El clima regional es de tipo templado húmedo

con influencia oceánica, inviernos suaves y veranos cortos y frescos. El régimen de precipitaciones presenta un promedio anual de 900 mm con una distribución normal y una mayor concentración en el periodo primavera-estival. No obstante, registra un exceso de las precipitaciones sobre la evapotranspiración durante los meses de invierno lo cual, junto con la escasa pendiente y con la baja permeabilidad de los suelos en algunas zonas, genera frecuentes inundaciones. Durante el verano puede presentarse un leve déficit hídrico. Entre los factores adversos para la agricultura se encuentran también las heladas que, aunque rara vez se producen fuera de época, se caracterizan por su variabilidad. El periodo libre de heladas oscila entre 123 y 245 días, y no se registran años sin heladas (fuente: Centro Regional de Agrometeorología FAA-UNICEN).

Desde el punto de vista fitogeográfico, el área de estudio forma parte de la provincia Pampeana descrita por Cabrera y Willink (1973) y Cabrera (1976) y, en términos morfofisiográficos, contiene ambientes de tres subregiones de la región Pampeana (figura 1). El núcleo del área de estudio está dominado por el sistema orográfico de Tandilia compuesto por serranías y llanuras periserranas que se proyectan con diferentes longitudes de onda hasta terminar en lomadas extensas y relativamente bajas (Nuñez y Sánchez, 2006). Debido al relieve y a los afloramientos rocosos, las serranías poseen escasa o nula aptitud para la agricultura. Pero, con presencia de suelos bien drenados, las llanuras periserranas constituyen los sitios más aptos para la siembra de cultivos, si bien pueden presentar limitaciones de profundidad y riesgo de erosión hídrica en las ondulaciones. Hacia el norte, este núcleo está rodeado por

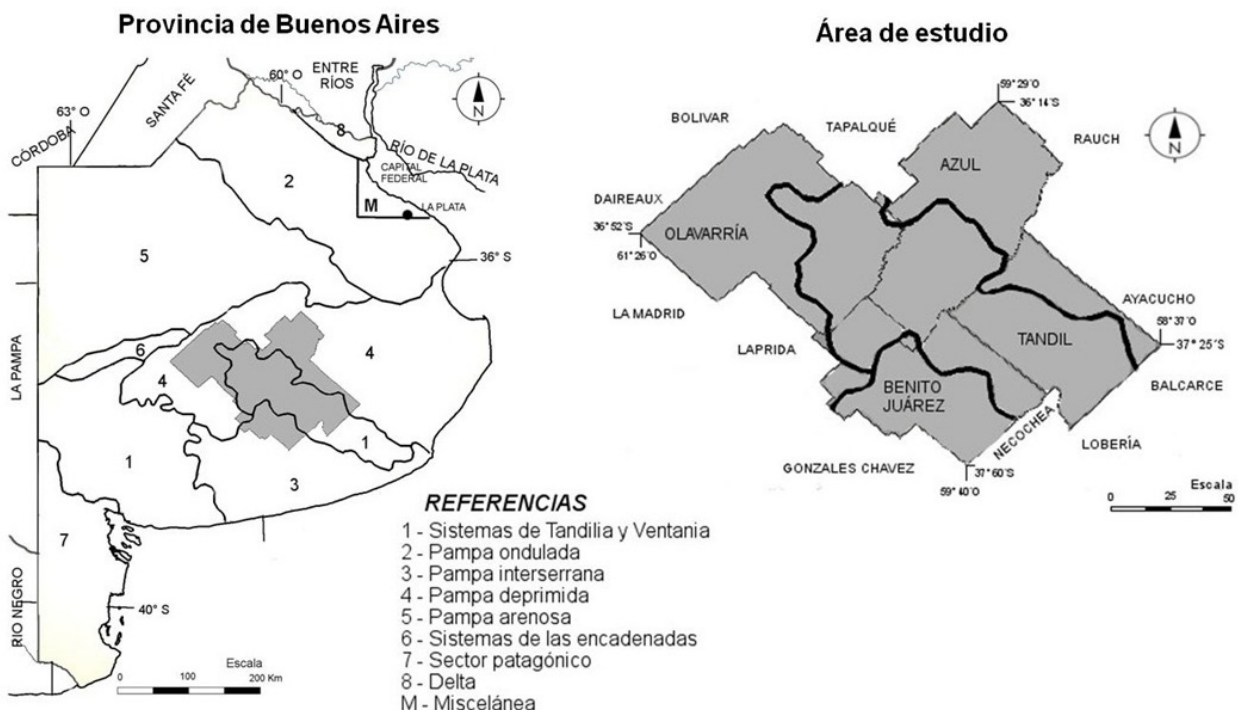


Figura 1. Localización del área de estudio en la provincia de Buenos Aires. Tomado y adaptado de Morello *et al.* (2000).

ambientes correspondientes a la Pampa deprimida, cuyo relieve plano y escasas pendientes dificultan o impiden el drenaje de los excesos hídricos y generan una serie de limitaciones para la producción agrícola. No obstante, la agricultura es posible en los parches topográficamente positivos que aparecen con baja frecuencia y ello ha sido reflejado en el partido de Azul a través del uso de imágenes satelitales (Vázquez *et al.*, 2016). El área de estudio se completa con una pequeña fracción de la llanura interse-rana hacia el sur del partido de Benito Juárez, con suelos aptos para agricultura.

Obtención y tratamiento de datos

A fin de analizar la evolución de la superficie sembrada con los principales cultivos se utilizó como fuente de información las estimaciones agrícolas aportadas por el Sistema Integrado de Información Agropecuaria del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación (SIIA) para los partidos que integran el área de estudio. Concretamente, se utilizaron los datos de superficies sembradas para los cultivos de avena, cebada cervecera, girasol, maíz, soja y trigo pan para el periodo que se extiende desde la cam-

paña 1995/96 hasta la campaña 2015/16. A lo largo de este periodo, los cultivos seleccionados ocuparon más del 95% de la superficie cultivada en el área de estudio. Junto con el procesamiento y clasificación de imágenes satelitales, el uso de estadísticas oficiales ha sido reconocido como una metodología válida para describir los cambios en el uso de la tierra (Paruelo *et al.*, 2006).

Las principales variables de análisis fueron: 1) la superficie sembrada por campaña destinada a los diferentes cultivos y 2) la diversidad planeada asociada al número y superficie relativa de estos últimos. Para estimar el nivel de diversidad planeada se utilizó primariamente el índice de diversidad de Shannon. En su aplicación a comunidades vegetales, este índice considera la contribución de cada especie presente en la comunidad ponderada por la abundancia relativa. El índice se expresa como $H' = -\sum_{i=1}^S (p_i) (\log p_i)$ donde H' es el valor de diversidad, S es el número de especies y p_i es la proporción o abundancia relativa de la especie i (Begon *et al.*, 1995). En su utilización como estimador de diversidad planeada, los cultivos reemplazaron a las especies y su abundancia relativa fue ponderada por la superficie sembrada de cada uno de ellos.

Campaña	Cultivo						Sup Total
	Avena	Cebada cervecera	Girasol	Maíz	Soja	Trigo	
1995/1996	25950	0	87500	108000	32500	238500	492450
1996/1997	41000	1700	83000	133500	35300	324800	619300
1997/1998	53000	2450	88500	127500	61500	279500	612450
1998/1999	49500	1500	119500	95000	72000	253800	591300
1999/2000	43000	900	108400	92000	85000	285300	614600
2000/2001	41500	0	75900	82600	131000	290500	621500
2001/2002	40500	0	85000	65500	104000	280500	575500
2002/2003	36500	1450	86000	50400	132000	242000	548350
2003/2004	37900	10700	73000	44000	250000	263000	678600
2004/2005	33500	15500	77000	52000	247411	258500	683911
2005/2006	30200	26400	70500	45600	256000	217000	645700
2006/2007	32000	55000	72500	48000	271500	212500	691500
2007/2008	27100	70500	78000	55000	291500	202300	724400
2008/2009	29000	82000	71000	49500	249300	170200	651000
2009/2010	19000	65500	62000	43500	430463	139680	760143
2010/2011	23500	74000	69700	50100	432000	146900	796200
2011/2012	20300	93500	65000	59500	416400	134500	789200
2012/2013	23600	174550	44000	100000	593320	68965	1004435
2013/2014	22890	105577	52500	99300	459600	80600	820467
2014/2015	30200	105000	66300	115000	426540	137200	880240
2015/2016	42100	165850	67500	136133	436326	101110	949019

Tabla 1. Superficie sembrada de los principales cultivos en las campañas comprendidas entre 1995 y 2015 en el área bajo estudio. Valores expresados en ha.

Considerando que el valor de S no varió a lo largo del periodo de estudio dado que el número de cultivos fue establecido previamente en función de su relevancia regional, el índice de diversidad H' fue reemplazado en segunda instancia por el índice de equitatividad J' propuesto también por Shannon. Aplicado al caso de estudio, este índice estima solamente la uniformidad entre las superficies cultivadas de los seis cultivos analizados. Se calcula como $J' = H' / \ln S$ y varía entre 0 y 1. La proyección gráfica de los valores de J' correspondientes a cada campaña permitió analizar su tendencia a lo largo del periodo estudiado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Siguiendo las tendencias generales registradas para vastas regiones del país (Viglizzo *et al.*, 2010), la superficie sembrada con los seis principales cultivos en el centro bonaerense registró un crecimiento sostenido durante el periodo de estudio entre 492450 ha y 949019 ha (tabla 1). Ello significó un incremento de 93%, a partir del cual, la agricultura alcanza actualmente una ocupación de 39% de la superficie total del área de estudio. No obstante, este valor podría elevarse de manera significativa si se considera solamente las tierras aptas para cultivo, una vez descontados los sectores de serranías y planicies inundables. Por una parte, la expansión agrícola registrada puede ser interpretada como un fenómeno impulsado por incrementos en el margen bruto de los principales cultivos (Puechagut, 2012). No obstante, debe considerarse que este fenómeno solo beneficia a aquellos productores con capacidad para reemplazar ganadería por agricultura dentro de la misma superficie o para expandir la escala de producción a través de la compra o arrendamiento de nuevas tierras (Bilello *et*

al., 2017). Por otra parte, los procesos de expansión agrícola han sido vinculados también con un aumento de los costos ambientales en términos de degradación del suelo, contaminación del agua y del aire, pérdida de diversidad biológica y deterioro de servicios ecológicos esenciales (Matson *et al.*, 1997; FAO, 2007; Viglizzo, 2008).

Los datos de la tabla 1 correspondientes a las superficies sembradas de cada cultivo fueron convertidos a valores relativos, en términos de porcentaje de la superficie total, y proyectados en el tiempo a fin de analizar su dinámica (figura 2). Se destaca en particular la magnitud de los cambios relativos en los cultivos de trigo y soja los que, a su vez, muestran tendencias opuestas. La participación relativa del trigo, cultivo dominante a mediados de los 90, descendió desde casi 50% de la superficie total a poco más del 10% al final del periodo. Por su parte, la soja pasó de representar un cultivo secundario a mediados de los 90, donde ocupaba menos del 10% de la superficie total, a oscilar en torno al 50% en las campañas más recientes y reemplazar al trigo como cultivo dominante.

Dentro de esta tendencia general, el aumento en la participación relativa de la soja puede tener diferentes efectos de acuerdo a las variables ambientales que se tomen en consideración. Según Pincen *et al.* (2010), la expansión de la soja en los planteos productivos mejora la eficiencia energética (balance entre producción de energía y consumo de energía fósil), fundamentalmente cuando se adopta el sistema de siembra directa que reduce de manera significativa el gasto de energía asociado a la labranza. Al mismo tiempo, estos autores destacan efectos de carácter negativo como aumentos en los riesgos de contaminación por plaguicidas y en la extracción de nutrientes y reducción en la calidad del hábitat asociada a la pérdida de bio-

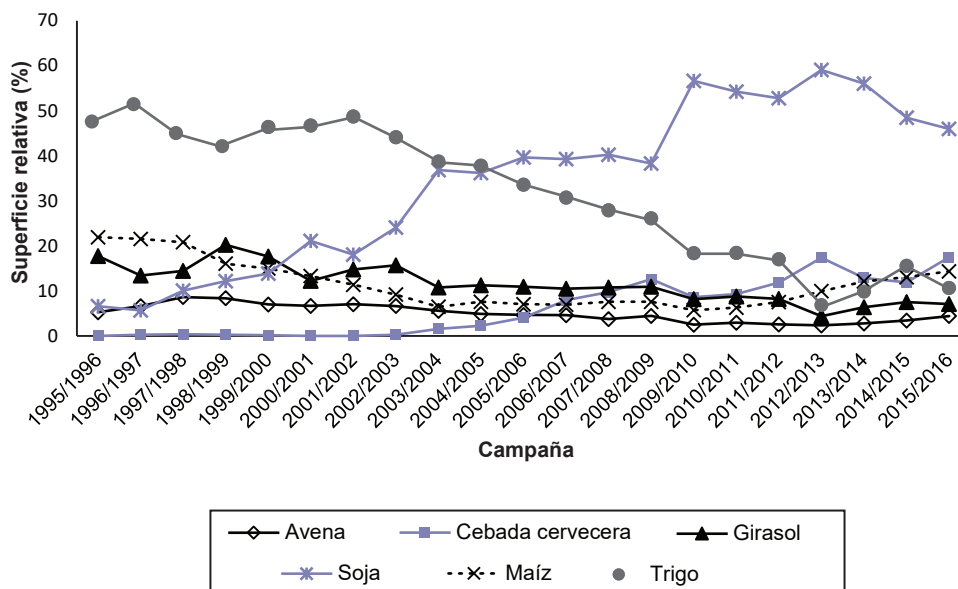


Figura 2. Evolución de la superficie relativa de los principales cultivos en el área bajo estudio.

diversidad. Esto último adquiere especial relevancia si se toma en cuenta la variedad de servicios ecosistémicos que dependen de la biodiversidad, entre los que se destacan los servicios de regulación climática, hídrica y biológica (Martín-López y Montes, 2011).

Los restantes cultivos raramente superaron el 20% de la superficie total (figura 2). No obstante, merece destacarse el surgimiento de cebada cervecera a partir de la campaña 2005/06 y su posterior crecimiento relativo que posicionó a este cultivo como la principal alternativa invernal, por encima del trigo, al final del periodo de estudio. Este hecho puede explicarse, en principio, por las ventajas en la comercialización de la cebada que incluyen menores derechos de exportación respecto al trigo y la posibilidad de establecer contratos directos entre productores y malterías. A ello debe sumarse los beneficios que ofrece la cebada como antecesor de soja de segunda. Al cosecharse 10-15 días antes que el trigo es posible anticipar la siembra de soja y lograr mejores condiciones de humedad y disponibilidad de nitrógeno para su implantación. Con ello se favorece el crecimiento y desarrollo de este cultivo y mejora consecuentemente su rendimiento en grano (Forján y Manso, 2016).

Por su parte, girasol y maíz mostraron una tendencia declinante a lo largo del periodo de estudio, aunque el maíz registró una cierta recuperación en la última campaña analizada. Ello podría estar motivado por la quita de retenciones y eliminación de los ROES(Registros de Operaciones de Ex-

portación) que han generado un mercado más transparente y con ello un incentivo para la siembra de este cultivo (Alesso, 2017). De conservar esta tendencia, y en virtud de su elevada productividad y volumen de rastrojo, el maíz podría desempeñar un rol ambientalmente relevante para la región, por su aporte tanto a la captación de carbono atmosférico como a la recuperación de la materia orgánica del suelo. De acuerdo a estimaciones realizadas por Manso y Forján (2012) en la localidad de Barrow, distante a menos de 200 km al sur del área de estudio, el contenido de materia seca del rastrojo de maíz duplica al de trigo y triplica al de soja. El mismo trabajo muestra que la inclusión de maíz en las rotaciones desace-lera en forma significativa la pérdida de materia orgánica de suelo, en comparación con los planteos basados exclusivamente en el doble cultivo trigo-soja de segunda.

El análisis se completa con el cultivo de avena, de escasa participación a lo largo de todo el periodo de estudio. En la provincia de Buenos Aires particularmente, la superficie sembrada con avena ha experimentado un descenso lento y gradual a partir de 1995 y, entre las principales causas, se menciona la competencia con el cultivo de trigo y raigrás, los ataques de roya de la hoja y el desplazamiento de la ganadería por la agricultura (IMHICIHU-CONICET, 2012).

Mientras que la superficie conjunta de los seis cultivos analizados prácticamente se duplicó durante el periodo de estudio, la equitatividad mostró valores elevados y relativamente estables dentro de un rango que osciló entre

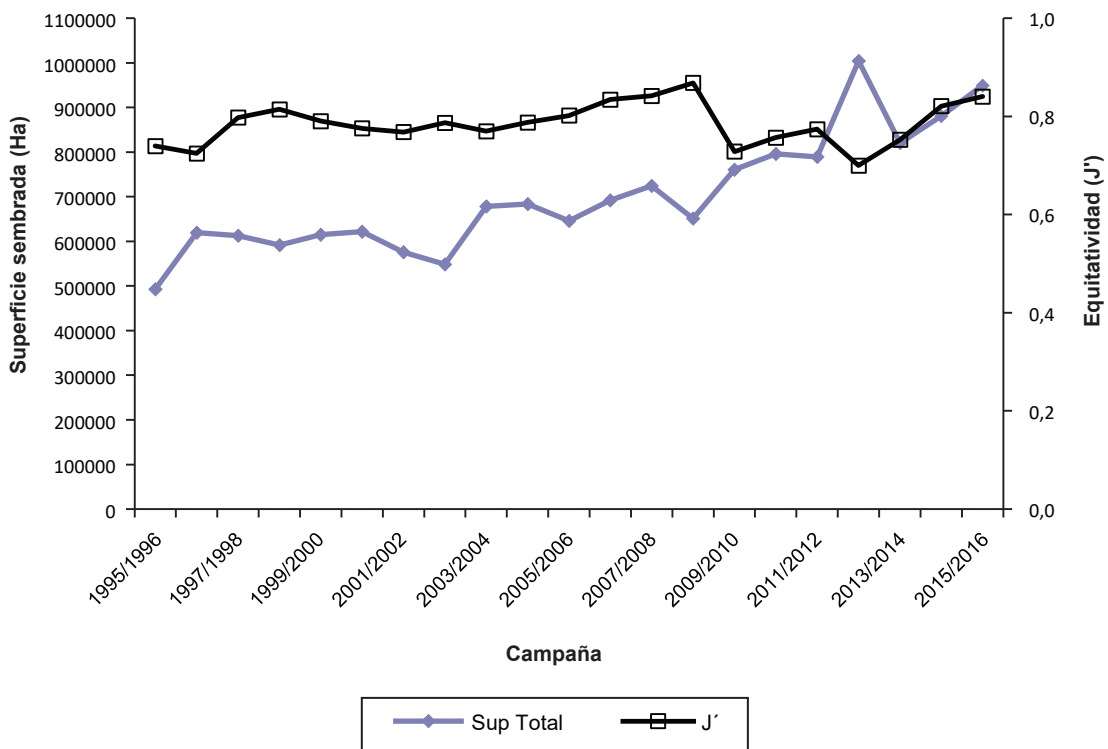


Figura 3. Evolución de la superficie total y de la equitatividad durante el periodo de estudio.

$J' = 0,76$ y $J'' = 0,86$ (figura 3). Ello puede ser explicado en el marco de las dinámicas propias de cada cultivo. Por un lado, las tendencias opuestas entre trigo y soja se comportaron como un proceso de reemplazo mutuo de modo que, como fue puntualizado previamente, el grado de dominancia varió escasamente entre el comienzo y el final del periodo de estudio. Con excepción del segmento 2010-2014, el cultivo dominante se mantuvo por debajo de 50% de la superficie total en prácticamente todo el periodo (figura 2). Por otro lado, los cambios relativos de los demás cultivos mostraron también efectos compensatorios por lo que no afectaron mayormente los niveles de J' . Un comportamiento similar, pero a nivel de establecimientos, fue registrado en la llanura periserrana del partido de Tandil (Seehaus y Requesens, 2014).

Es pertinente destacar que los mayores impactos ambientales, y también socioeconómicos, se producen cuando la expansión agrícola es acompañada por la monopolización de espacio y recursos por parte de una especie determinada y la consecuente pérdida de diversidad biológica (Aizen *et al.*, 2009). En razón de ello, la biodiversidad ha sido postulada como un factor clave para la sustentabilidad de los agroecosistemas (Sarandón, 2014; Stupino *et al.*, 2014). Consecuentemente, la conservación de una alta equitatividad en el conjunto de los principales cultivos de la región podría: 1) actuar como un factor amortiguador de aquellos impactos al limitar la homogenización del espacio y 2) constituir una base estructural adecuada para propiciar un aumento en la diversidad asociada, dada la estrecha relación que existe entre ambos componentes de la agrobiodiversidad (FAO, 2007; Nieto Rodríguez, 2017). Esto último se fundamenta en el hecho de que una mayor heterogeneidad de hábitat, producto de combinar espacial y temporalmente diferentes tecnologías, fisiologías y fenologías de cultivos, es fundamental para restaurar y sostener la biodiversidad en los agroecosistemas (Benton *et al.*, 2003).

CONCLUSIÓN

De los resultados obtenidos puede concluirse que, durante las últimas décadas, el centro de la provincia de Buenos Aires ha estado sometido a un proceso de expansión agrícola altamente dinámico en cuanto al comportamiento de los principales cultivos de la región pero, a la vez, conservador de altos niveles de equitatividad.

Los costos ambientales que frecuentemente se derivan de los procesos de expansión agrícola, que se concentran en pocas especies como la soja, fundamentan la conveniencia de conservar y en lo posible elevar aún más los niveles de equitatividad registrados para el área de estudio. Esto último podría lograrse a partir de una mayor participación relativa de cultivos no dominantes. En particular, es recomendable un aumento en la participación de aquellos cultivos que, como maíz y trigo, presentan mejores balances de carbono en el suelo con respecto a la soja y por lo tanto contribuyen a mejorar o preservar la calidad del suelo y elevar en consecuencia la sustentabilidad de los agroecosistemas de la región.

BIBLIOGRAFÍA

- AIZEN, M.; GARIBALDI, L.; DONDO, M. 2009. Expansión de la soja y diversidad de la agricultura argentina. *Ecología Austral* 19, 45-54.
- ALESSO, M.J. 2017. Siembra de maíz. Especial Maíz 2016/2017. *AgrofyNews*. (Disponible: <https://news.agrofy.com.ar/especiales/maiz16-17/siembra-maiz-verificado>: 08 de septiembre de 2017).
- BEGON, M.; HARPER, J.; TOWNSEND, C. 1995. La naturaleza de la comunidad. Capítulo 16. *Ecología. Individuos, poblaciones y comunidades*. Ediciones Omega S. A., Barcelona. 886 p.
- BENTON, T.; VICKERY, J.; WILSON, J. 2003. Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key? *Trends in Ecology & Evolution* 18(4), 182-188.
- BILELLO, G.; BLOCK, K.; MENICI, D. 2015. Nuevas formas de organización productiva y reconversión de unidades a partir de la sojización. El caso de Tres Arroyos. *Actas de las ix Jornadas Interdisciplinarias de Estudios Agrarios y Agroindustriales Argentinos y Latinoamericanos*. Versión CD. Buenos Aires.
- CABRERA, A. 1976. Regiones Fitogeográficas Argentinas. Tomo II. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. Buenos Aires: Editorial: ACME.
- CABRERA, A.; WILLINK, A. 1973. Biogeografía de América Latina, Washington: Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos.
- FAO. 2007. El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Parte 1: Pagos a los agricultores por servicios ambientales. Colección FAO: Agricultura N.º 38.
- FORJAN, H.; MANSO, L. 2016. La secuencia de cultivos. En: FORJAN, H.; MANSO, L.(Ed.). Capítulo 3. Rotaciones y secuencias de cultivos en la región mixta cerealera del centro-sur bonaerense. 30 años de experiencias. INTA Ediciones. Buenos Aires.
- IMHICIHU-CONICET. 2012. La Argentina en mapas: Evolución de la agricultura. (Disponible: <http://www.imhichu-conicet.gov.ar/ARGENTINAenMAPAS/caste/intr.htm> verificado: 08 de septiembre de 2017).
- MANSO, L.; FORJÁN, H. 2012. La materia orgánica del suelo. En: FORJAN, H.; MANSO, L.(Ed.). Capítulo 5. Rotaciones y secuencias de cultivos en la región mixta cerealera del centro-sur bonaerense. 30 años de experiencias. INTA Ediciones. Buenos Aires.
- MARTÍN-LÓPEZ, B.; MONTES, C.2011. Capítulo 6. Biodiversidad y servicios de los ecosistemas. En: JIMÉNEZ HERRERO, L. Capítulo 6. Biodiversidad en España. Base de la sostenibilidad ante el cambio global. 503 p.
- MATSON, P.; PARTON, W.; POWER, A.; Swift, M. 1997. Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science* 277: 504-509.
- MORELLO, J.; BUZAI, G.; BAXENDALE, C.; MATTEUCCI, S.; RODRÍGUEZ, A.; GODAGNONE, R.; CASAS, R. 2000. Urbanización y consumo de tierra fértil. *Revista Ciencia Hoy* 10 (55), 50-61.
- NIETO RODRÍGUEZ, G. 2017. Agrobiodiversidad y servicios ecosistémicos: una revisión desde los componentes y prácticas de manejo. Trabajo de graduación. Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Estudios Ambientales y Rurales. Maestría en Conservación y Uso de la Biodiversidad. Bogotá, D.C.
- NUÑEZ, M.; SÁNCHEZ, R. 2006. Hacia una mejor comprensión de las potencialidades y restricciones ecogeográficas de los sistemas de tierras asociadas a Tandilia. *Contribuciones Científicas (GAEA)* 67: 165-180.
- PARUELO, J.; GUERSCHMAN, J.; PIÑEIRO, G.; JOBBÁGY, E.; VERÓN, S.; BALDI, G.; BAEZA, S. 2006. Cambios en el uso de la tierra en Argentina y Uruguay: marcos conceptuales para su análisis. *Agrociencia* x (2): 47-61.

PINCÉN, D.; VIGLIZZO, E.; CARREÑO, L.; FRANK, F. 2010. La relación soja-ecología-ambiente. Entre el mito y la realidad. En: VIGLIZZO, E.; JOBBÁGY, E. (Ed.). *Expansión de la frontera agrícola agropecuaria en Argentina y su impacto ecológico-ambiental*. Ediciones INTA, Buenos Aires.

PUECHAGUT, M. 2012. Expansión y rentabilidad agrícola en la postconvertibilidad. *Revista Voces en el Fénix* N.º 12.

REQUESENS, E. *Agriculturización y riesgos ambientales: el impacto del modelo sojero*. *Revista Conciencia Rural*. Noviembre de 2014.

REQUESENS, E.; SILVA, L. 2011. Tendencias en el uso de la tierra y diversidad productiva en establecimientos agropecuarios del centro-sur de la provincia de Buenos Aires (Argentina). *Revista Agriscientia* xxviii: 75-83.

SANS, F.; ARMENGOT, L.; BASSA, M.; BLANCO-MORENO, J.; CABALLERO-LÓPEZ, B.; CHAMORRO, L.; JOSÉ-MARÍA, L. 2013. La intensificación agrícola y la diversidad vegetal en los sistemas cerealistas de secano mediterráneos: implicaciones para la conservación. *Ecosistemas* 22(1), 30-35.

SARANDÓN, S. 2014. El agroecosistema: un ecosistema modificado. En: SARANDÓN, S.; FLORES, C. (ed.). *Capítulo 4. Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables*. Edulp. La Plata. 466 p.

SEEHAUS, M.; REQUESENS, E. 2014. *Agriculturización y diversidad productiva en la llanura periserrana del centro-sudeste bonaerense*. *Revista Facultad de Agronomía, La Plata*, 113 (2), 100-106.

STUPINO, S.; IERMENÓ, M.; GARDOLOFF, N.; BONICATTO, M. 2014. La biodiversidad en los agroecosistemas. En: SARANDÓN, S.; FLORES, C. (ed.). *Capítulo 5. Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables*. Edulp, La Plata. 466 p.

VAZQUEZ, P.; ZULAICA, L.; REQUESENS, E. 2016. *Análisis ambiental de los cambios en el uso de las tierras en el partido de Azul (Buenos Aires, Argentina)*. *Revista Agriscientia* 33 (1): 15-26.

VIGLIZZO, E. 2008. *Agricultura, clima y ambiente en Argentina: tendencias, interacciones e impacto*. En: Solbrig, O.T.; Adámoli, J. (Coord.). *Capítulo 8. Agro y ambiente: una agenda compartida para el desarrollo sustentable*. Foro de la Cadena Agroindustrial Argentina, Buenos Aires.

VIGLIZZO, E.; CARREÑO, L.; PEREYRA, H.; RICARD, F.; CLATT, J.; PINCÉN, D. 2010. *Dinámica de la frontera agropecuaria y cambio tecnológico*. En: VIGLIZZO, E.; JOBBÁGY, E. (ed.). *Expansión de la frontera agropecuaria en Argentina y su impacto ecológico-ambiental*. Ediciones INTA, Buenos Aires. 102 pp.

Evaluación sensorial del topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) como alimento

IBARGUREN, L.¹; CALDERON, M.¹; TESSARO, S.¹; BERTONA, A.¹; REBORA, C.¹

RESUMEN

Entre el 16 y el 20% del peso fresco del tubérculo de topinambur es inulina. Esta actúa como prebiótico, favoreciendo el desarrollo de bacterias benéficas en el colon. La harina de topinambur no tiene gluten, lo que la hace apta para celíacos; y además, tiene valor energético reducido. Con el objetivo de valorar el potencial del topinambur como alimento, y debido a la tendencia mundial hacia el consumo de comidas rápidas, se elaboraron productos saludables con topinambur: snacks (saborizados con queso parmesano, estevia y testigo), panificados (galletas dulces y saladas y magdalenas tradicionales e integrales) y puré deshidratado (con variedades de topinambur de epidermis roja y de epidermis blanca). Se determinó la valoración general de los productos. Se consultó sobre la intención de compra de estos y la voluntad de consumo del alimento ligada al género. La evaluación sensorial de los snacks no mostró diferencias entre ellos. En el caso de los panificados, la valoración general presentó diferencias; las galletas dulces fueron significativamente mejor evaluadas que los dos tipos de magdalenas, las que no se diferenciaron entre sí, y por último las galletas saladas fueron las menos apreciadas por los evaluadores. Los purés deshidratados no presentaron diferencias significativas entre sí. En líneas generales, las mujeres son las que muestran mayor voluntad de consumo.

Palabras clave: snacks, panificados, puré, consumo.

ABSTRACT

Between 16 and 20% of the fresh weight of the tuber of Jerusalem artichoke is inulin. This one is a prebiotic that promotes colon's beneficial bacterial development. Jerusalem artichoke flour has no gluten, which makes it suitable for celiacs and also, it has reduced energy value. With the aim of spreading Jerusalem artichoke consumption, and because of the worldwide trend towards fast foods consumption, healthy products with topinambur were made: snacks (flavored with Parmesan cheese, Stevia and natural), baked goods (cookies and crackers, and traditional and integral muffins) and dry out smash (with red and white epidermis varieties of Jerusalem artichoke). General valuation of the products were determined. We consulted about purchase and consumption intention linked to gender. Snacks sensory evaluation showed no difference between them. Baked goods cases showed differences; cookies were evaluated significantly better than two muffins type, which did not differ from each other, and finally crackers were worse evaluated. Dry out smash did not present difference between them. Women are who express more voluntary of consumption.

Keywords: snacks, backer goods, mashed, consumption.

¹Universidad Nacional de Cuyo (UNCuyo), Facultad de Ciencias Agrarias, Alnte. Brown 500, Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina. Correo electrónico: libarguren@fca.uncu.edu.ar

INTRODUCCIÓN

El topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) es un alimento que acumula hidratos de carbono en forma de inulina en vez de almidón. La inulina es el principal carbohidrato de reserva en estos tubérculos; es soluble, no digerible y su presencia les da condición de alimento funcional. Entre el 16 y 20% del peso fresco del tubérculo es inulina (Duke, 1983; Kays *et al.*, 2008; Ragab *et al.*, 2003). Sus principales efectos positivos para la salud son la función de fibra dietética y la capacidad de actuar como prebiótico, 4 g de inulina diarios son efectivos para incrementar el número de bacterias benéficas en el colon (Rao, 1999). La harina producida a partir del topinambur no tiene gluten, lo que la hace apta para celíacos. Además, tiene un bajo aporte energético (1,5 kcal/g) (Carvalho *et al.*, 2004; Eguia, 2014; Ibarguren *et al.*, 2013; Moshfegh *et al.*, 1999).

Existen numerosas variedades de topinambur difundidas en el mundo, pero en la Argentina se conocen solo dos, y las estas se diferencian por el color rojo o blanco de su epidermis (Rebora, 2008).

Scollo *et al.* (2011) elaboraron con topinambur cuatro productos alimenticios de gran consumo en la población actual. Estos tenían elevado contenido de hidratos de carbono solubles (inulina), actuando como un ingrediente bioactivo con características saludables diferentes al producto utilizado tradicionalmente (generalmente a partir de harina de trigo). En el marco de dicho ensayo se elaboraron: pan integral, pan multiseminado, barritas de cereal y alfajores. Al ser evaluados sensorialmente, se concluyó que el 77,5% de los jueces prefirieron el pan realizado con topinambur, mientras que en el caso de la barrita de cereal con harina de topinambur fue elegida en el 95% de los casos. Además, los degustadores mencionaron la falta de "sensación de hambre" durante varias horas postingesta. Esto podría deberse al elevado contenido de fibra dietética soluble (inulina) que tiene el topinambur. Puede apreciarse, por lo tanto, que los productos elaborados tuvieron buena aceptación.

En el mundo de hoy el consumidor busca adquirir productos que no demanden un gran esfuerzo en su elaboración. Entre ellos se destacan los snacks y las galletas (panificados), que forman parte de la dieta diaria de gran parte de la población. El puré en escamas es también un alimento cuyo consumo se incrementó considerablemente en los últimos años (Tessaro, 2014).

La evaluación sensorial es una disciplina científica utilizada para medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de los alimentos, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído (Ureña *et al.*, 1999). Para medir el grado de satisfacción de los consumidores se utilizan escalas de categorización aplicadas en análisis como el de apreciación hedónica o el de actitud del consumidor. La primera mide el nivel de placer experimentado al consumir determinado alimento, a partir de la apreciación de cuánto agrada o desagrada. La segunda permite conocer la predisposición a volver a adquirir un determinado alimento, después de haber sido evaluado (Montenegro *et al.*, 2008).

Con el objetivo de valorar el potencial del topinambur como alimento, y debido a la tendencia mundial hacia el consumo de comidas rápidas, se elaboraron productos saludables con topinambur: snacks (saborizados con queso parmesano, estevia y testigo), panificados (galletas dulces y saladas y magdalenas tradicionales e integrales) y puré deshidratado (con variedades de topinambur de epidermis roja y de epidermis blanca).

Se planteó la siguiente hipótesis de trabajo: alimentos que contienen distintas proporciones de topinambur son aceptados por potenciales consumidores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se prepararon snacks, panificados y puré a partir de topinambur.

1. Snacks

Se elaboraron snacks cortando los tubérculos de epidermis roja, con procesadora de alimentos hogareña, en rodajas de 3 mm de espesor. Se dispusieron las rebanadas en bandejas y se rociaron con dos diluciones en agua: una con saborizante natural estevia al 2,5% y otra con saborizante artificial de queso parmesano al 30%. La tercera muestra fue testigo sin agregados. Se secaron en estufa de aire forzado a 65 °C hasta lograr peso constante. Debido a que el tubérculo de topinambur tiene forma irregular y esto hace que deban eliminarse algunas partes de este para cortar las rodajas con la procesadora, se determinó el rendimiento de los tubérculos, es decir, qué cantidad de snacks se obtiene por kilo de estos en fresco.

2. Panificados

Se rallaron los tubérculos de topinambur de epidermis roja con procesadora de alimentos hogareña y se deshidrataron en la estufa de aire forzado a 65 °C hasta lograr peso constante. Las formulaciones de los panificados fueron las siguientes; por cada 100 g de tubérculo rallado deshidratado se incorporó:

- Galletas dulces: 140 g manteca, 140 g azúcar, 70 g huevo, 1,5 g de sal, 60 g chips de chocolate, 140 g de harina leudante, 90 g avena, 60 g nueces picadas y 7 ml de esencia de vainilla.
- Galletas saladas: 200 g harina integral, 200 g harina 0000, 170 g semillas de girasol tostadas, 15 g de semillas de sésamo, 50 ml aceite girasol, agua cantidad necesaria.
- Magdalenas tradicionales: 65 g salvado de avena, 250 g harina leudante, 150 g azúcar, 1,25 g de bicarbonato de sodio, 125 g huevo, 20 g de ralladura de naranja, 125 ml aceite de girasol, 125 ml leche descremada.
- Magdalenas integrales: 80 g manteca, 80 g azúcar negra, 20 g azúcar blanca, 100 g miel, 2 g de sal,

200 g huevos, 2 g canela, 15 g de ralladura de limón, 120 ml leche descremada, 250 g harina integral, 15 g levadura.

3. Puré instantáneo

Se hirieron en agua los tubérculos de epidermis roja y de epidermis blanca pelados, luego se llevaron a horno de deshidratado a 65 °C, se los trituró, tamizó y finalmente se le incorporaron aditivos para mejorar las características organolépticas y de conservación del producto. Se utilizaron monoestereato de glicerol y pirofosfato de sodio como emulsionante y estabilizador de la emulsión; ácido cítrico para regular la acidez; y BHA y BHT como antioxidantes.

A los purés deshidratados se los preparó de la siguiente forma: por cada kilo de tubérculo crudo sin cáscara se incorporó 100 ml de leche descremada, 70 g de mantequilla, 1,25 g de sal de mesa y 0,25 g de pimienta blanca.

Adicionalmente se determinó el rendimiento, es decir, cuánto puré se obtiene por kilo de tubérculos en fresco.

Todos los alimentos obtenidos fueron sometidos a evaluación sensorial. En el caso de los snacks participaron 76 personas (41 mujeres y 35 hombres), en la de los panificados 53 (29 mujeres y 24 hombres) y en la del puré 109 (56 mujeres y 53 hombres). Se realizaron degustaciones de los productos y los participantes utilizaron planillas de valoración general, en las que se consultó sobre: a) la valoración general del producto, con una escala del 1 al 10, donde 1 es "me disgusta mucho" y 10 es "me gusta mucho"; b) intención de compra, sobre el total de degustaciones realizadas, quienes adquirirían o no el producto (en %) y; c) voluntad de consumo ligada al género y al rango etario; menores de 25 años, entre 25 y 45 años y mayores de 45 años (en %).

Análisis estadístico de datos

Los datos obtenidos de la evaluación sensorial se sometieron a análisis de varianza no paramétrico (prueba de Friedman). El diseño de la experiencia ha sido en bloques completos aleatorizados (cada consumidor se considera un bloque). Se trabajó con un nivel de significancia de $p \leq 0,05$. El software estadístico utilizado fue InfoStat.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los productos formulados con topinambur fueron valorados por los posibles consumidores, midiendo también la intención de compra y la voluntad de consumo ligada al género.

1. Snacks saludables

Como primer resultado, el lavado de los tubérculos generó una pérdida del 12% del peso de los recién cosechados, además se produjo un 10% de desperdicio

durante el momento de corte de las rodajas. Estas a su vez perdieron, en promedio, un 78% del peso fresco cuando fueron deshidratadas. Así, por cada kilo de tubérculos se obtuvieron 174 g de snacks.

a. Valoración general del producto

La valoración general del producto se presenta en la tabla 1. No existieron diferencias significativas entre los snacks elaborados con topinambur.

Producto	Valoración general promedio
Snacks con estevia	6,52 a
Snacks con parmesano	6,28 a
Snacks testigo	6,23 a

Tabla 1. Valoración general de los snacks.

Medias con letras iguales indican que no hay diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

b. Intención de compra

Como puede observarse en la figura 1, al consultar la intención de compra del producto, en caso de que se encuentre disponible en góndola, el 55,3% de los encuestados adquiriría los snacks con estevia, el 24,3% los de queso parmesano y el 80% los snacks testigo.

c. Voluntad de consumo ligada al género

De las 41 mujeres que participaron de la degustación de snacks, 25 lo consumirían (61%); y de los 35 hombres solo 12 (34%) lo harían si estuvieran disponibles en el comercio. La voluntad de consumo que se manifestó según género y rango etario se presenta en la figura 2. Como puede observarse, el 85% de las mujeres de entre 26 y 45 años consumirían alimentos fabricados con topinambur si estos estuvieran disponibles en góndola. Los otros rangos etarios analizados en mujeres también presentaron un alto porcentaje de voluntad de consumo (superior al 60%). En el caso de los hombres la voluntad de consumo fue menor, alcanzando el 47% para los mayores de 45 años.

2. Panificados

a. Valoración general del producto

La valoración general presentó diferencias significativas entre los productos; las galletas dulces fueron significativamente mejor evaluadas que los dos tipos de magdalenas, las que no se diferenciaron entre sí, y por último las galletas saladas fueron las menos apreciadas por los evaluadores.

b. Intención de compra

La intención de compra de los panificados es de 98,1% para las galletas dulces, 92,5% para las mag-

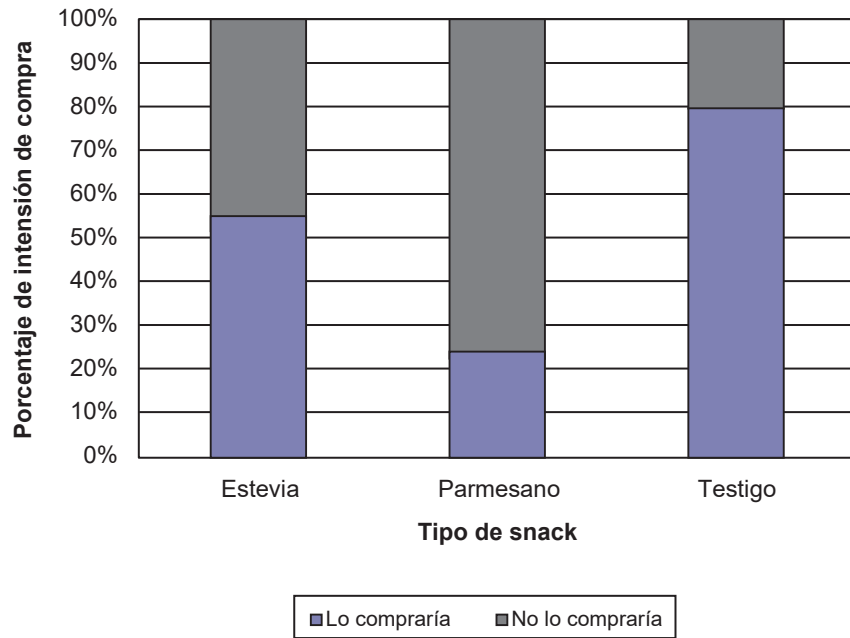


Figura 1. Intención de compra de los snacks de topinambur.

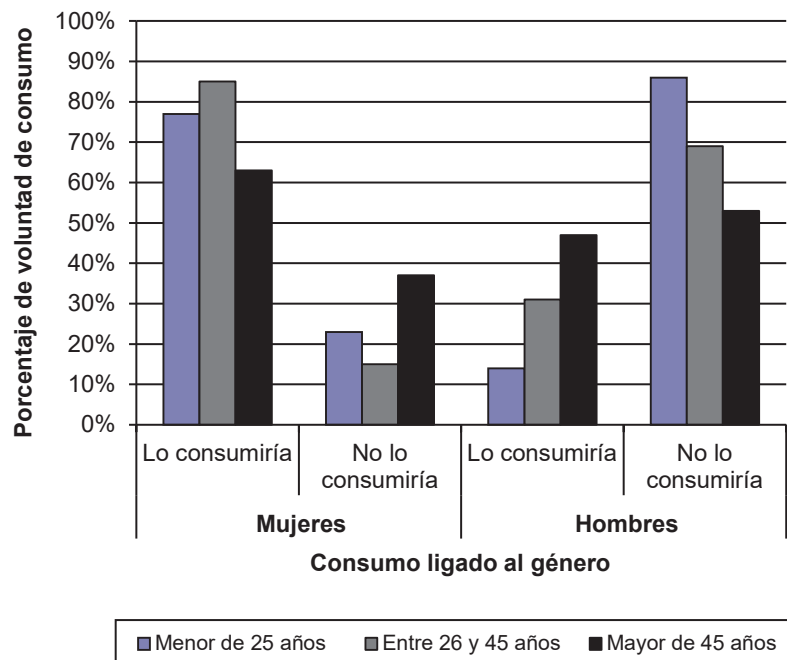


Figura 2. Voluntad de consumo de snacks ligada al género.

dalenas tradicionales, 83% para las magdalenas integrales y 64,2% para las galletas saladas. Esto puede observarse en la figura 3.

c. Voluntad de consumo ligada al género

En la figura 4 se observa que tanto para las 29 mujeres que participaron de la degustación como para los

24 hombres, los rangos etarios entre 26 y 45 años y mayor a 45 años fueron los que mostraron mayor interés en consumir panificados con topinambur. Todos los hombres y las mujeres mayores de 26 años estarían dispuestos a incorporar estos alimentos en su vida diaria. Las mujeres mostraron intención de consumo superior a los hombres.

Producto	Valoración general promedio
Galletas dulces	8,57 a
Magdalenas tradicionales	7,60 b
Magdalenas integrales	7,08 b
Galletas saladas	6,32 c

Tabla 2. Valoración general de los productos panificados. Medias con letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

3. Puré

Como primer resultado de la elaboración del puré se menciona que en el proceso de lavado se pierde un 12% del peso de los tubérculos recién cosechados, durante el pelado un 19%, en la cocción 14% y 82% en el deshidratado. Así, por cada kilo de tubérculo recién cosechado se obtienen 110 g de puré deshidratado.

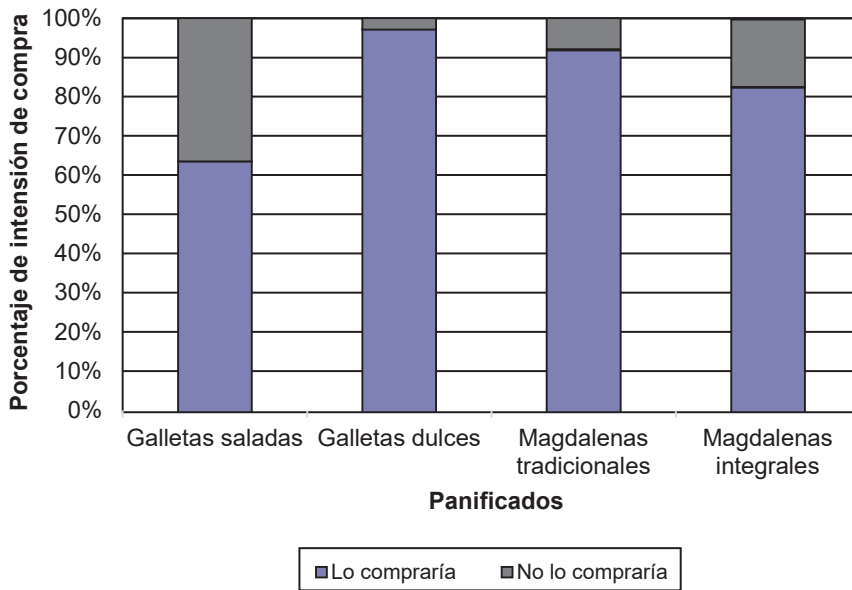


Figura 3. Intención de compra de los panificados.

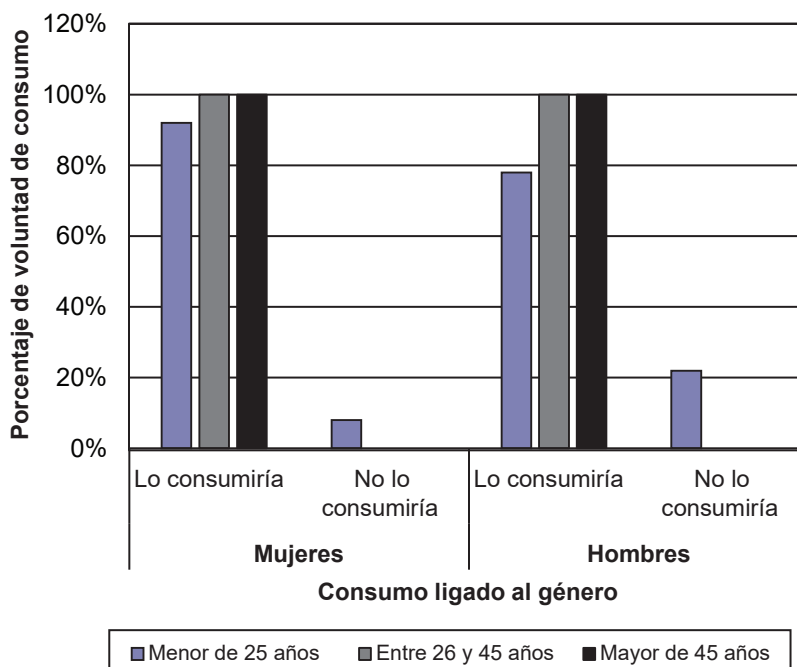


Figura 4. Voluntad de consumo de los panificados ligada al género.

a. Valoración general del producto

No se observaron diferencias significativas entre los purés elaborados con tubérculos de epidermis blanca y de epidermis roja.

Producto	Valoración general promedio
Puré variedad roja	6,65 a
Puré variedad blanca	6,36 a

b. Intención de compra

Respecto a la intención de compra, como se observa en la figura 5, esta fue del 31,5% para los purés elaborados con ambas variedades de tubérculos.

Tabla 3. Valoración general del puré.

Medias con letras iguales indican que no hay diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

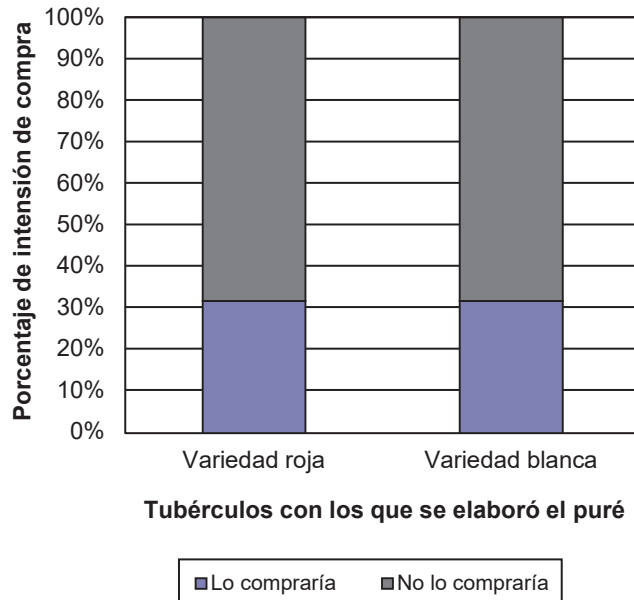


Figura 5. Intención de compra del puré.

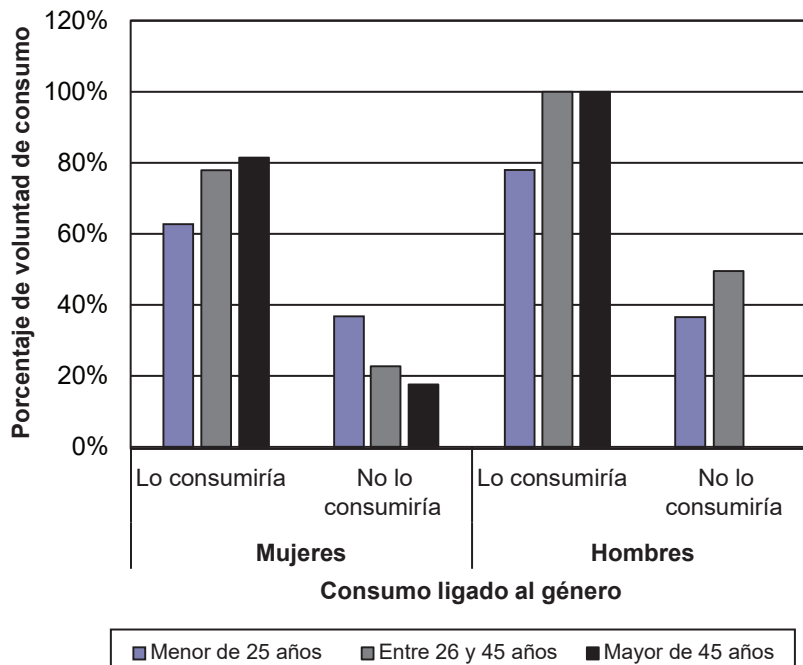


Figura 6. Voluntad de consumo del puré ligada al género.

c. Voluntad de consumo ligada al género

La evaluación sensorial del puré fue realizada por 56 mujeres y 53 hombres. Como se observa en la figura 6, tanto las mujeres como los varones mayores de 45 años fueron quienes mostraron mayor voluntad de consumo del puré de topinambur. A su vez, las mujeres se mostraron más interesadas en incorporar estos alimentos en su dieta diaria, siendo el 75% de ellas quienes lo consumirían contra el 60% de los varones.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indican que los alimentos formulados con distintas proporciones de topinambur son aceptados por potenciales consumidores; y constituyen una alternativa saludable a la alimentación habitual debido a su alto contenido de inulina y a los beneficios que esta aporta a la salud humana. Se puede ver que, a pesar de no tener costumbre de consumo de topinambur, los productos elaborados tuvieron buena aceptación por los consumidores en general, especialmente por las mujeres. Realizando algunas mejoras sugeridas por los evaluadores y dando a conocer la calidad nutricional y alimenticia de la materia prima, estaríamos en condiciones de generar alimentos saludables a partir de topinambur.

BIBLIOGRAFÍA

- CARVALHO, S.; TOLEDO, I.; ARAÚJO, F.; PEREIRA G. 2004. Fructanos en raíces tuberosas de yacón (*Smallanthus Sonchifolius* Poep. & Endl.) expuestas al sol y almacenadas bajo condiciones ambientales. *Agro-Ciencia* 20 (1), 17-23 pp.
- DUKE, J. 1983. *Helianthus tuberosus* L. Handbook of energy crops. (Disponible: http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke.energy/Helianthus_tuberosus.html verificado: marzo de 2018).
- EGUIA, E. 2014. Topinambur, una especie con grandes cualidades como alimento funcional. Universidad Fasta. Argentina. (Disponible: http://redi.ufasta.edu.ar:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/678/2014_N_009.pdf?sequence=1 verificado: marzo de 2018).
- IBARGUREN, L.; REBORA, C. 2013. El cultivo de Topinambur: generalidades sobre su ecofisiología y manejo. *Horticultura Argentina* 32 (77), 35-41 pp.
- KAYS, S.; NOTTINGHAM, S. 2008. *Biology and Chemistry of Jerusalem Artichoke Helianthus tuberosus* L. Ed. CRC Press.
- MONTENEGRO, G.; GÓMEZ, M.; PIZARRO, R.; CASAUBON, G.; PEÑA, R. 2008. Implementation of sensory panel for Chilean honeys. *Cienc. Inv. Agr.* 35 (1), 51-58 pp.
- MOSHFEGH, A.; FRIDAY, J.; GOLDMAN, J.; CHUG AHUJA, K. 1999. Presence of Inulin and Oligofructosa in the Diets of Americans. *The Journal of Nutrition, American Society for Nutrition*, vol 129, 1407s-1411s pp.
- RAGAB, M.; OKASHA, A.; ELOKSH, I.; IBRAHIM, M. 2003. Effect of cultivar and location on yield, tuber quality, and storability of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) I. Growth, yield, and tuber characteristics. *Acta Horticulturae*. 620, 103-111 pp.
- RAO, A. 1999. Response effects of inulin and oligofructose on intestinal bifidogenesis effects. *J. Nutr.* 129:1442-1445.
- REBORA, C. 2008. Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.): usos, cultivos y potencialidad en la región de cuyo. *Horticultura Argentina* 27 (63), 30-37 pp.
- SCOLLO, D.; UGARTE, M.; VICENTE, F.; GIRAUDO, M.; SANCHEZ TUERO, H.; MORA, V. 2011. El potencial del topinambur en la salud y la nutrición. *Diaeta*; 29(137):7-13.
- TESSARO, S. 2014. Alimento con alto contenido de Fructanos: Puré de Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.). (Disponible: http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/6793/tesis-tessaro-silvina.pdf verificado: febrero de 2018).
- UREÑA, M.; D'ARRIGO, M.; GIRÓN, O. 1999. Evaluación sensorial de los alimentos. Ed. Agraria. Lima. Perú.

Reduction of liver abscesses in feedlot cattle by the addition of tannins on diet

CABRAL, C.¹, REDONDO, E.A.^{2,3}, DELGADO, F.^{2,4}

ABSTRACT

Liver abscess is a common disorder of feedlot cattle developed usually after ruminal acidosis. Despite of this condition is generally asymptomatic, it causes economic losses due to the reduction of feed efficiency. Routinely, antibiotics have been used as growth promoters, which can control ruminal acidosis. However, these have not direct effect on liver abscess and their use in the food chain has been under revision because of the concern about the development of antibiotic resistance. Thus, the need of alternatives increases. Tannins have been used for growth promotion in fattening of cattle, but they have not been evaluated for controlling liver disease. The aim of this study was to evaluate the effect of plant-based tannins on the prevalence of liver abscess in feedlot cattle. Two groups of Angus heifers were fattened under regular feedlot conditions; one received the regular feed (control group (CG), n=237 cows) with monensin (40 g/tn of Dry Matter (DM)) as growth promoter. Feed of the other group (tannin's group (TG), n=258 animals) was added with a commercial blend of tannins (2500 g/tn DM). Animals stayed in the feedlot until fattening was finished, and were sacrificed in the slaughterhouse. Presence of liver abscess was evaluated at the postmortem inspection. Additionally, one sample of the right lobe of healthy liver was collected for histopathologic examination of in approximately 20% of cows from both groups (69 from TG and 66 from CG). Macro and microscopic abscess development were compared by Fischer's Exact Test. A numeric score of microscopic changes was used and differences in microscopic liver affection between groups were evaluated with the Mann-Whitney test. Differences for all statistics were considered significant when $p < 0.05$. Three animals from TG and 14 from CG showed abscesses, being this difference significant ($p = 0.0051$). Microscopically, there was no difference since 35 animals from TG and 33 from CG showed microscopic abscess ($p = 1$). Finally, there were no differences in microscopic scores from both groups ($p = 0.7452$). The obtained results suggested that the tannin treatment is effective in controlling the development of liver abscess. However, presence of microscopic lesions in cows from TG suggested that the treatment regulated their progression but not the colonization of liver by the infectious agents. Nevertheless, the mechanisms involved are unknown and should be determined in further studies.

Keywords: feedlot cattle, liver abscess, tannins.

¹Silvateam, Indunor S. A. Cerrito 1136, C1010AAX, Buenos Aires, Argentina.

²Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Patobiología. De los Reseros y Nicolás Repetto, 1686, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.

³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Godoy Cruz 2290, C1425FQB, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

⁴Universidad del Salvador, Escuela de Veterinaria, Catedra de Patología Animal, Champagnat 1599, B1630AHU, Pilar, provincia de Buenos Aires, Argentina. Correo electrónico: delgado.fernando@inta.gob.ar

RESUMEN

El desarrollo de abscesos hepáticos es frecuente en bovinos en engorde intensivo como consecuencia de acidosis ruminal. Tal condición suele ser asintomática, pero genera pérdidas económicas. Ciertos antibióticos se utilizan frecuentemente como promotores del crecimiento, colaborando en el control de la acidosis. Sin embargo, su uso en producción animal es cuestionado debido al riesgo de generar resistencia en microorganismos, requiriéndose por lo tanto de productos alternativos. Además, estos no tienen efecto sobre los abscesos hepáticos. Los taninos son productos vegetales utilizados como promotores de crecimiento en engorde de bovinos y no han sido evaluados como herramienta para prevenir la aparición de abscesos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de taninos vegetales sobre el desarrollo de abscesos hepáticos en bovinos de feedlot. Dos grupos de vaquillonas cruza Angus fueron alimentadas con una dieta habitualmente empleada en engorde a corral; un grupo (grupo control (CG), $n=237$ animales) recibió monensina como promotor de crecimiento (40 g/t materia seca (MS)). El otro grupo (Grupo Taninos (TG), $n=258$ animales) recibió una mezcla comercial de taninos (2500 g/t MS). Una vez finalizada la terminación los animales fueron sacrificados en frigorífico, en donde se determinó la presencia de abscesos hepáticos. Una muestra del lóbulo derecho fue recolectada para estudio histopatológico en aproximadamente el 20% de los animales sin cambios macroscópicos de cada grupo (69 de TG y 66 de CG). La presencia de abscesos macro y microscópicos en ambos grupos fue comparada mediante el Test Exacto de Fischer. El grado de afección microscópica entre grupos fue evaluado mediante la prueba de Mann Whitney. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas cuando se obtuviera un valor de $p<0,05$. Tres bovinos de TG y 14 de CG mostraron abscesos a la inspección macroscópica, esta diferencia fue significativa ($p=0,0051$). Microscópicamente no hubo diferencias ya que 35 animales de TG y 33 de CG mostraron lesiones ($p=1$). No se encontraron diferencias en la gravedad de las lesiones entre ambos grupos ($p=0,7452$). Los resultados obtenidos indicaron que el tratamiento con taninos fue efectivo en el control de abscesos hepáticos. La presencia de lesiones microscópicas en bovinos del TG sugirió que el tratamiento controla la progresión del cuadro, pero no la colonización del agente causal. Los mecanismos implicados permanecen desconocidos y deberán analizarse en futuros estudios.

Palabras clave: engorde a corral, absceso hepático, taninos.

INTRODUCTION

Liver abscess is a common disorder of feedlot cattle, usually related with ruminal acidosis. They are frequently caused by *Fusobacterium necrophorum*, but other agents can be involved. Frequently, microorganism accesses the liver via portal system vessels when the ruminal mucosa is damaged by the low pH caused by diets with high level of energy and low fiber. Usually asymptomatic, liver abscess causes economic losses due to the reduction of the productive performance, the affection of the carcasses' condition and the seizure of the viscera (Brink *et al.*, 1990; Nagaraja *et al.*, 1999; Tadepali *et al.*, 2009).

In order to control liver abscesses in feedlot systems, antibiotics have been used for long time (Matsushima *et al.*, 1954, Potter *et al.*, 1985). However, their use is under revision since their role in the selection of antibiotic resistant bacteria arose as a worldwide concern. Moreover, when used for metaphylaxis or as growth promoters they are applied in low doses for long period of time, ideal conditions for the development of antibiotic resistance (Redondo *et al.*, 2014). Because of it, alternatives for prevention of liver abscess in feedlot cattle should be tested.

Tannins extracted from several plants were successfully tested as alternatives for the antibiotics growth promoters

(AGP). Their addition on animal diet improves the productive performance of many species (Frutos *et al.*, 2004; Redondo *et al.*, 2014). Moreover, the effect of tannins was tested against some specific pathogenic agents (Akiyama *et al.*, 2001; Elizondo *et al.*, 2010). However, their ability for controlling liver abscess was not estimated. The aim of this study was to evaluate the effect of plant-based tannins on reducing the prevalence of liver abscess in animals fattened under feedlot conditions.

MATERIALS AND METHODS

Animals and facilities

A total of 495 Angus heifers were raised in regular feedlot facilities and fattened under intensive managing. Features of the diet supplied are resumed in Table 1. Animals were divided in 2 groups of 258 and 237 cows. In order to compare the effect of tannins over the presence of liver abscess, AGP were not used in the experimental group. Thus, ration of the first group (tannin group or TG) was added with 2500 g/tn of dry matter (DM) of a commercial blend of tannins (Silvafeed Bypro, Silvateam Argentina, Buenos Aires, Argentina), and the second group (Control group or CG) received the standard dose of monensin (Manufactured by an

Item	Tannin Group (TG)	Control Group (CG)
Animals under study	258	237
Dry matter (%)	70	70
Crude Protein (%)	13.7	13.7
Energy (Mcal/Kg DM)	2.96	2.96
Antibiotic Growth Promoting Monensin (Manufactured by an international pharmaceutical company for addition to cattle feed)	-----	40 mg/kg DM
Tannins Treatment (Silvafeed Bypro, Silvateam Argentina, Buenos Aires, Argentina)	0,25%	-----
Days in fattening (average)	90.09	92.88

Table 1. Description of experimental groups, diet and treatment applied.

international pharmaceutical company for addition to cattle feed) for feedlot fattening (40 g/tn DM) as growth promoter.

Animals from both groups stayed in the feedlot system 50 to 120 days and were sent to the abattoir when fattening was finished.

Pathologic study

Gross inspection was performed in the abattoir. Presence of abscesses was evaluated by inspection, palpation and the serial cut of the organ. It was considered abscess any focal structure composed by a semiliquid clear yellow-to-green mass of necrotic tissue surrounded by a capsule of connective tissue (figure 1).

Presence of microscopic changes in grossly healthy livers was evaluated in both groups. For that, one tissue sample of the right lobe was collected (2 cm³ in size approximately) from at least 20% of cows without abscesses from each group. Samples were immersed in 10% buffered formalin solution and then embedded in paraffin following the standard histological technique. Hematoxilin/ eosin staining was performed on liver slides (2 µm in size), according to routine procedures.

Corresponding score	Pathologic features of focus
1	Size: Less than one hepatic lobule necrotic. Exudate: scanty peripheral neutrophils
2	Size: Necrosis involved the full lobule Exudate: scanty or several neutrophils
3	Size: Necrosis involved more than one lobule Exudate: Numerous neutrophils surrounding and filling the focus

Table 2. Criteria for scoring the micro abscess detected. Final score was calculated by the sum of each foci detected in each animal.

Microscopic changes in livers were quantitatively scored. For this, all foci of hepatic necrosis filled and surrounded by neutrophils present in the slides were considered. One to 3 points were assigned to each focus, depending on its size (table 2). The final score was calculated by the sum of all micro abscesses detected in each slide.

Statistical analysis

The number of grossly and microscopically affected animals in each group was compared through the Fischer exact Test. Microscopic scores were evaluated by the non-parametrical Mann-Whitney test. Differences were considered statistically significant when the p-value was <0.05 (Confidence level: 95%).

RESULTS

Gross inspection

Results are resumed in table 3 and figure 1. Three animals from TG and 14 from CG presented abscesses. Prevalence for each group were 1.162% (3/258) and 5.9% (14/237) respectively. Differences between groups were statistically significant (p=0.0051). Most animals showed 1 focus (2 from TG and 8 from CG), being the maximum 3 foci/liver (1 from TG and 2 from CG).

Presence of abscess was detected in animals which stayed at least 80 days in the feedlot for both treatments. In TG, one cow showed abscess at day 80, and 2 at day 120. On the other hand, 7 animals had abscess at day 80, 2 at day 107 and 5 at day 120 in CG.

Histopathology

Samples of liver were collected in 69 and 66 animals from TG and CG, respectively. Thirty five animals from TG and 33 from CG showed micro abscesses, being their prevalence 50.72% and 50% respectively (table 4). Scores for

	Tannin Group	Control group
Abscess (Prevalence %)	3* (1.162%)	14 (5.9%)
No abscess	255	223
Total	258	237

Table 3. Gross inspection. Animals with liver abscess and healthy in each group.

*Difference statistically significant (Fischer exact test, $p=0.0051$)

	Tannins	Control	Total
Micro abscess	35 ^l	33	68
No changes	34	33	67
Total	69	66	135

Table 4. Microscopic inspection. Animals with micro abscesses and healthy in each group.

^lDifference not significant

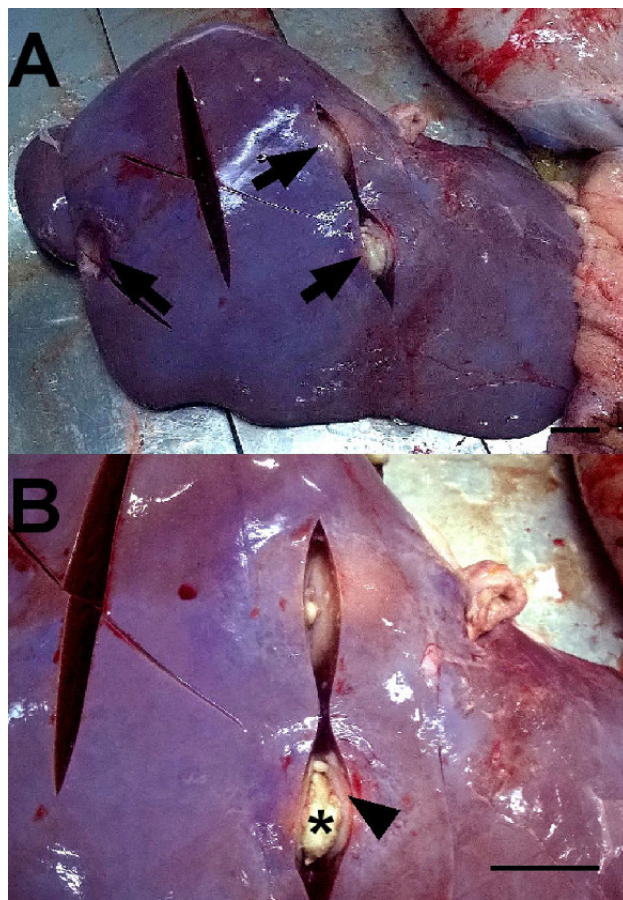


Figure 1. Cow from control group. Liver: Arrows shows 3 abscesses in the parenchyma (arrows). Bar: 5 cm. B: Magnification of A. Note the necrotic material (*) surrounded by a capsule of connective tissue. Bar: 5 cm.

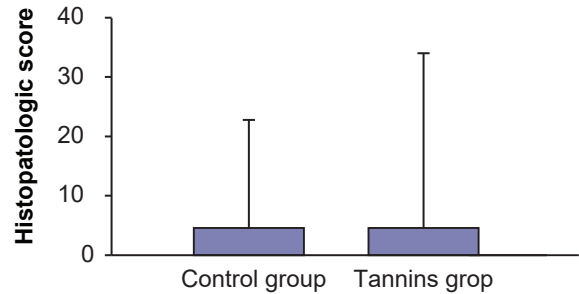


Figure 2. Scores of microscopic inspection of healthy liver of cows from both groups. Bars indicate arithmetic media with the standard drift. Circles and squares indicated the individual scores for each group.

microscopic changes are resumed in Figure 2. Maximum score was 30 for TG and 22 for CG. Differences between groups for both microscopic analysis were not significant ($p=1$ for microscopic changes development and $p=0.7452$ for histopathologic score).

DISCUSSION

Tannins used at low or moderate doses improve the performance of animal productive systems (Frutos *et al.*, 2004; Redondo *et al.*, 2014), but their effect on pathologic conditions has not been proved. In the present report we evaluated their usefulness for prevention of liver abscess in feedlot fattening cattle, and the obtained results indicated that the commercial blend of tannins administrated reduced their prevalence in comparison with a regular diet which included an antibiotic (monensin) for growth promoting.

The mechanisms by which tannins controlled liver abscess were not studied. The differences detected could be related with the proved antibacterial property of tannins (Akiyama *et al.*, 2001), which could control some specific pathogens in rumen. The antibacterial effect of certain tannins has been proved against some microorganisms, but not for controlling *F. necrophorum*, the most important agent related with liver abscess. However, growth of *Staphylococcus aureus* (another causative agent of liver abscess) is reduced by tannins and the effect of these compounds on other anaerobe microorganism such as *Clostridium perfringens* was proved *in vitro* (Akiyama *et al.*, 2001, Elizondo *et al.*, 2010). Thus, it could be possible that the growth of the etiologic agent (whatever it was) was limited in the ruminal lumen and this reduced the risk of liver abscess in the TG.

Other explanation for differences could be related with the development of ruminal acidosis. Animals from TG could control this condition while those from the CG might develop it, and thus the liver affection would be predisposed. Unfortunately ruminal pH and ruminal integrity could not be evaluated, but the presence of microscopic abscess in liver of animals from both groups indicated that microbial infection occurred. This suggested that affection of rumen would not be different between both groups.

Reduced prevalence of gross changes in cows from TG (which had micro abscesses) suggested that cows from this group controlled the disease more efficiently after the infection occurred. Although it would be rare that tannins acted against microorganism in the liver since their absorption is scanty or null, it cannot be discarded that an unknown metabolite of tannins with antibacterial effect was capable to access the liver. Other explanation would be related with an enhanced performance of immune response associated to the better absorption of amino acids in gut, caused by the protein protection by tannins in the rumen (Frutos *et al.*, 2004). Considering the effects of tannins over the ruminal microbiota and the immune system, control of liver abscess probably became from a synergistic effect. Thus, the etiologic agent might be partially controlled in the ruminal environment and the immune system might control more efficiently the infection in the TG group. However, further studies should be performed in order to determine the mechanisms by which tannins reduce the prevalence of liver abscesses in feedlot cattle.

Prevalence of liver abscesses in Argentina, where feedlot activity has increased considerably in the last decades, has not been deeply studied. An old report indicated that 4.4% of feedlot cattle were affected. In contrast, between 12 to 32% of feed lot cattle showed the disease in the United States (Brink *et al.*, 1990; Nagaraja and Chengappa, 1998; Giuliadori *et al.*, 2000; Nagaraja and Lechtenberg, 2007). In the present report, the prevalence obtained for the control group was slightly higher than the previously described for feedlots in Argentina. However, this was remarkably lower than the one reported for United States (Giuliadori *et al.*, 2000; Nagaraja *et al.*, 2007). This fact could be explained by the differences in the raising systems, but more probably by the time that the animals tested in the present study spent on fattening. It was reported that time in fattening is a risk factor for the presence of liver abscesses (Amachawadi and Nagaraja, 2016), and the obtained results in this work support this. Thus, it should be interesting to test the performance of tannins for prevention of liver abscesses in prolonged periods of time.

Tannins have been successfully tested for replacing of antibiotics growth promoters in cattle and other species bred under intensive conditions. The present report describes the reduction of prevalence of liver abscesses associated with their use as an additional effect. Although the mechanisms of action for this property were not explained and further studies should be performed, this non-reported effect of tannins would help for the rational use of antibiotics, and to improve the economic gains of feedlot farms.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Claudia Moreno and Daniel Funes for the histological support and Dr Sol Pérez Aguir-

reburualde and Gimena Rodriguez for the manuscript review.

REFERENCES

- AKIYAMA, H.; FUJII, K.; YAMASAKI, O.; OONO, T.; IWATSUKI, K. 2001. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother, 48:487-491.
- AMACHAWADI, R.G.; NAGARAJA, T.G. 2016. Liver abscesses in cattle: A review of incidence in Holsteins and of bacteriology and vaccine approaches to control in feedlot cattle. J. Anim. Sci. 94:1620-1632. doi: 10.2527/jas.2015-0261
- BRINK, D.R.; LOWRY, S.R.; STOCK, R.A.; PARROT, J.C. 1990. Severity of Liver Abscesses and Efficiency of Feed Utilization of Feedlot cattle. J. Anim. Sci. 68:1201-1207
- ELIZONDO, A.M.; MERCADO, E.C.; RABINOVITZ, B.C.; FERNANDEZ-MIYAKAWA M.E. 2010. Effect of tannins on the in vitro growth of *Clostridium perfringens*. Vet Microbiol 145:308-314. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.04.003
- FRUTOS, P.; HERVÁS, G.; GIRÁLDEZ, F.J.; MANTECÓN, A.R. 2004. Review. Tannins and ruminant nutrition. Span J Agric Res, 2: 191-202.
- GIULIODORI, M.J.; LASTA, G.; COSTA, E.F.; CORVA, S.G.; BALDO, A. 2000. Liver Abscess Prevalence in Feedlot Cattle from Argentina. Analecta Veterinaria, 20: 29-31.
- MATSUSHIMA, J.; DOWE, T.W.; ADAMS, C.H. 1954. Effect of aureomycin in preventing liver abscess in cattle. Proc Soc Exp Biol Med; 85:18-20.
- NAGARAJA, T.G.; BEHARKA, A.B.; CHENGAPPA, M.M.; CARROLL, L.H.; RAUN, A.P.; LAUDERT, S.B.; PARROTT, J.C. 1999. Bacterial flora of liver abscesses in feedlot cattle fed tylosin or no tylosin. J Anim Sci. 77: 973-978.
- NAGARAJA, T.G.; CHENGAPPA, M.M. 1998. Liver abscesses in feedlot cattle: a review. J Anim Sci. 76: 287-298.
- NAGARAJA, T.G.; LECHTENBERG, K.F. 2007. Liver Abscesses in Feedlot Cattle. Vet Clin Food Anim 23: 351-369.
- POTTER, E.L.; WRAY, M.; MULLER, R.D.; GRUETER, H.P.; MC ASKILL, J.; YOUNG, D. 1985. Effect of monensin and tylosin average daily gain, feed efficiency and liver abscess incidence in feedlot cattle. J Anim Sci, 61: 1058-1065.
- REDONDO, L.M.; CHACANA, P.A.; DOMINGUEZ, J.E.; FERNANDEZ MIYAKAWA, M.E. 2014. Perspectives in the use of tannins as alternative to antimicrobial growth promoter factors in poultry. Front Microbiol. 27; 5:118. doi: 10.3389/fmicb.2014.00118
- TADEPALLI, S.; NARAYANAN, S.K.; STEWART, G.C.; CHENGAPPA, M.M.; NAGARAJA, T.G. 2009. *Fusobacterium necrophorum*: A ruminal bacterium that invades liver to cause abscesses in cattle. Anaerobe 15: 36-43. doi: 10.1016/j.anaerobe.2008.05.005.

Efecto de la aclimatación a la intensidad lumínica en vivero sobre el desempeño postrasplante de plantines de *Austrocedrus chilensis*

LETOURNEAU, F.J.¹; NAMIOT, G.²; PERDOMO, M. H.²; BASIL, J.G.¹

RESUMEN

La restauración de bosques de *Austrocedrus chilensis* requiere plantines que soporten difíciles condiciones postrasplante. Durante la etapa de propagación en vivero, es común emplear cubiertas plásticas y mallas media sombra para la producción de plantines, pero esto induce una aclimatación a la intensidad lumínica que puede afectar su comportamiento al trasplante. El objetivo de este trabajo consistió en estudiar las características morfológicas y fisiológicas de la aclimatación y sus consecuencias sobre la mortalidad y crecimiento postrasplante a campo. Para esto se establecieron dos ensayos. En el primero se evaluaron los cambios de asignación de biomasa de hojas, tallos, raíces, y las variaciones de algunos parámetros fotosintéticos de 90 plantines aclimatados a tres niveles de luz durante tres años. En el segundo ensayo se trasplantaron 360 plantines en un diseño bifactorial (cobertura del micrositio y aclimatación en vivero) con dos niveles cada factor. Con los datos de este experimento se ajustaron un conjunto de modelos lineales de efectos mixtos, (Ho nulas y alternativas), y se estimaron las tasas de mortalidad y de crecimiento como respuesta a los factores; los modelos fueron contrastados entre sí mediante una prueba de cociente de verosimilitud (LRT). La aclimatación en vivero produjo cambios de área foliar específica ($P < 0,05$; $n=30$), en el cociente tallo/raíz, ($P < 0,05$; $n=30$); y en parámetros fotosintéticos como A_{\max} , y la eficiencia cuántica ϕ ($n=8$, $P < 0,05$). En el experimento a campo, no pudo rechazarse la Ho de que la tasa de mortalidad depende solo del factor micrositio (g.l.=3, AIC=112,35, $\chi^2=0,00$, $P=1,00$), y la covariable tamaño de planta mejoró la representación del modelo ($P=0,001^{***}$, g.l.=4, AIC=114,11, $\chi^2=101,35$), de acuerdo a la prueba de suma de rangos la distribución de frecuencia por tamaños de plantas muertas difiere por el grado de aclimatación en vivero ($W=80$, $P=0,01^*$). La prueba de modelos estableció que la aclimatación es un factor relevante para explicar el crecimiento postrasplante ($P < 0,001^{***}$, g.l.=4, AIC=475,12, $\chi^2=7,48$). El empleo de plantas aclimatadas en vivero a condiciones de alta radiación mejora el crecimiento inicial, y en menor grado afecta la supervivencia en etapa de trasplante. Para reducir la probabilidad de muerte es necesario proveer de protección a la insolación independientemente del grado de aclimatación.

Palabras clave: ecofisiología, fotosíntesis, morfología, mortalidad, crecimiento, modelos lineales mixtos, reforestación, restauración.

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro Regional Patagonia Norte (CR Pat. Nor), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Bariloche Dr. "Grenville Morris", Modesta Victoria 4450 (8400), San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina. Correo electrónico: letourneau.federico@inta.gob.ar. Dirección del autor: Casilla de Correo Nro. 26, CP 8430, El Bolsón, provincia de Río Negro, Argentina.

²Escuela Agrotécnica Nro. 717. Co. Radal, Lago Puelo, Chubut, Argentina.

ABSTRACT

The restoration of *Austrocedrus chilensis* forests requires seedlings that withstand difficult post-transplant conditions. During the stage of propagation in the nursery, it is common to use plastic covers and shade meshes for the production of seedlings, but this induces an acclimation to the light intensity that can affect their behavior to the transplant. The objective of this work was to study the morphological and physiological characteristics of acclimation and its consequences on post-transplant mortality and growth in the field. We established two trials, in the first one, we evaluated the changes in the biomass allocation of leaves, stems, roots, and the variations of some photosynthetic parameters, of 90 seedlings acclimated to three light levels for three years. In the second trial, we transplanted 360 seedlings in a two-factor design (micro site coverage and nursery acclimation) with two levels each factor. We fitted a set of mixed linear effects models using data of this experiment, the mortality and growth rates was estimated using one or both factors as predictor variable; and we tested the set of models with each other by a likelihood ratio test (LRT).

Nursery acclimation produced changes in specific leaf area ($P < 0.05$, $n=30$), in the stem / root ratio ($P < 0.05$, $n = 30$); and in photosynthetic parameters such as A_{max} and quantum efficiency ϕ ($n=8$, $P < 0.05$). In the field experiment, we could not reject H_0 that microsite levels factor is a significant predictor of mortality rate ($gl=3$, $AIC=112.35$, $\chi^2=0.00$, $P=1.00$). The covariate plant size improved the representation of this model ($P=0.001^{***}$, $gl=4$, $AIC=114.11$, $\chi^2=101.35$), further a rank sum test shows that frequency distribution by sizes of dead plants differs by the degree of acclimation to shade in the nursery ($W=80$, $P=0.01^*$). The LRT test established that acclimation is a relevant factor to explain post-transplant growth ($P < 0.001^{***}$, $g.l.=4$, $AIC=475.12$, $\chi^2=7.48$). The use of acclimated nursery plants at high radiation conditions improves the initial growth, and to a lesser degree affects the survival in the transplant stage. To reduce the probability of death, it is necessary to provide protection against insolation regardless of the degree of acclimation in the nursery.

Keywords: reforestation, restoration, ecophysiology, photosynthesis, morphology, mortality, growth, mixed linear models.

INTRODUCCIÓN

En etapas juveniles del bosque de *Austrocedrus chilensis* (D.Don) Pic. Serm. Et. Bizzari los arbustos ejercen un efecto positivo sobre los plantines de esta especie. Por una parte, este efecto es mediado por la sombra, al reducir las altas temperaturas que genera la radiación solar directa. Por otra parte, esta sombra también puede ejercer un efecto negativo, ya que reduce la radiación fotosintéticamente activa, y esto tiene impacto sobre la productividad de los plantines o árboles juveniles. Este interjuego de efectos positivos y negativos son determinantes en la dinámica de estos bosques (Kitzberger *et al.*, 2000; Letourneau *et al.*, 2004) y debe ser considerado cuidadosamente cuando se desea restaurar de forma activa. Para esto es necesario considerar cuidadosamente las condiciones en las que los plantines son producidos en vivero y las condiciones en que estos luego son trasplantados, ya que pueden afectar los resultados de los trabajos de restauración (Urretavizcaya y Deffosé, 2012). Por ejemplo, es común utilizar mallas media sombra para amortiguar condiciones de estrés hídrico de las plántulas, sin embargo, esto puede afectar negativamente la productividad de estas, ya que la cubiertas plástica de un invernáculo reduce entre 5% y 20% la radiación solar (Flores Ortega *et al.*, 2012; McMahon *et al.*, 1990, respectivamente), y las mallas media sombras pueden transmitir entre 50% y 80% de la radiación incidente (McMahon *et al.*, 1990). Los plantines se aclimatan al

ambiente lumínico a través de cambios morfológicos y fisiológicos, esto les permite sobrevivir y crecer dependiendo de su tolerancia a la sombra (Bond *et al.*, 1999). Estos cambios pueden ser un aumento del área fotosintética para compensar la reducción lumínica, a costa del crecimiento de raíces (Waring y Schlesinger 1985); la modificación de la anatomía interna de las hojas (Sharew *et al.*, 1996) que se refleja en su forma y tamaño; o los cambios en el crecimiento de los tallos (Ballaré *et al.*, 1991). Este proceso de aclimatación también afecta el proceso de fotosíntesis ya que las plantas pueden variar la concentración de clorofila y la fracción de nitrógeno invertida en la captura de luz, con cambios de eficiencia fotosintética, tasas máximas de asimilación y de respiración (Ninemets *et al.*, 1998; Grassi y Minotta, 2000; Delagrange *et al.*, 2004).

En el año 1999, la Reserva Forestal Loma del Medio – Río Azul gestionada por INTA fue afectada por un incendio forestal de 200 ha de extensión de bosques puros de *A. chilensis*. Diez años después, la recolonización posincendio había generado dos sectores bien diferenciados, uno caracterizado por especies leñosas nativas de hábito rebrotante, como *Nothofagus antartica*, *Lomatia hirsuta*, *Schinus patagonicus*, que es la situación común en estos bosques. Mientras que en otra área este proceso estuvo dominado por una rápida ocupación de especies invasoras con la especie arbórea *Betula alba* dominando el dosel, y un sotobosque de *Rosa eglanteria* y *Rubus sp.* de diver-

sa espesura. (Perdomo *et al.*, 2009). Por un lado, en el primer caso la vegetación presentó una cobertura baja, y una distribución espacial dispersa, esto facilitó las tareas de restauración, empleándose la cobertura de árboles y arbustos como nodrizas de los plantines de *A. chilensis*, y sus resultados son analizados en otro trabajo. Por otro lado, la vegetación invasora dificultaba el acceso para las tareas de restauración, y su alto nivel de cobertura excedía la protección necesaria para una exitosa plantación. En este caso se procedió a realizar el manejo de la vegetación mediante apertura de fajas con el objetivo de proceder a la reforestación. Si bien esta es una técnica que puede formar parte de la preparación del sitio para mejorar el desempeño de los plantines, no es usual que se aplique en áreas posincendio en este tipo de bosque nativo. Si bien la remoción de la vegetación libera recursos para los plantines (luz, agua, nutrientes), al mismo tiempo genera condiciones microclimáticas en la etapa de prendimiento que podrían ser negativas, (por ej. alta demanda evaporativa) y llevar al fracaso de la reforestación en el caso de esta especie. El objetivo de este trabajo consistió en caracterizar el grado de aclimatación de *A. chilensis* a la intensidad lumínica en vivero; y evaluar el efecto de esta aclimatación sobre la supervivencia y crecimiento de los plantines con posterioridad al trasplante en condiciones particulares de restauración.

Proponemos como hipótesis que la aclimatación a la intensidad lumínica en etapa de vivero afecta características morfológicas y ecofisiológicas de plantines de *A. chilensis*, que son críticas para sobrevivir y crecer al trasplantarlas; y la preparación del sitio genera condiciones microambientales que afecta a los plantines de forma diferenciada, según su grado de aclimatación en vivero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para alcanzar los objetivos propuestos y probar las hipótesis se realizaron dos experimentos independientes entre sí, en el primero se evaluó el efecto que tiene la intensidad lumínica sobre las características ecofisiológicas de los plantines en la etapa de vivero (experimento 1). En el segundo experimento, se evaluó el crecimiento y supervivencia postrasplante de plantas aclimatadas a distintos niveles de intensidad lumínica en vivero (experimento 2).

Experimento 1

Este experimento se diseñó como un ensayo factorial, donde se cultivaron 90 plantines de dos años de edad durante tres años, en tres niveles de intensidad lumínica (30 plantines por cada nivel, 8%, 41% y 100% de radiación solar). Originalmente los plantines fueron reproducidos por siembra en almácigos en un invernáculo, al alcanzar un año de edad fueron repicados a macetas de polietileno de 12 cm x 26 cm con un sustrato de textura franco – limosa y mantenidos en esas condiciones un año más. Luego fueron repicados a macetas de 27 cm x 31 cm con un sustrato similar, y se trasladaron a la intemperie debajo de

estructuras cubiertas con una malla plástica media sombra de color negro. Esta se dispuso de forma simple y doble para lograr niveles de cobertura intermedia (41%) y alta respectivamente (8%), y sin malla para un tratamiento testigo a pleno sol (100%). En esta etapa los plantines fueron irrigados con una frecuencia de 3 días durante el período de crecimiento vegetativo.

En cada nivel de cobertura se evaluó la respuesta fotosintética a saturación de luz, los cambios morfológicos a nivel de tallos, hojas y raíces, y el efecto que tiene la acumulación de biomasa foliar sobre el crecimiento de los plantines. La intensidad de luz se definió como la fracción entre la radiación fotosintéticamente activa (PAR, según sus siglas en inglés) medida en el ápice, respecto de PAR a pleno sol. El PAR se midió con un sistema Sunscan (Delta-T Devices Ltd, Cambridge, Reino Unido). Para establecer la respuesta fotosintética a saturación de luz se realizaron mediciones de fotosíntesis con un sistema LI-6200 (LI-COR, Nebraska, EUA), en cuatro plantines de cobertura nula (100% PAR) y cuatro de cobertura alta (8% PAR), en nueve niveles de PAR entre 0 y 2.000 mol fotones m² seg⁻¹ a 25 °C de temperatura y 360 ppm de CO₂. Para cada planta se ajustaron los parámetros (A_{max} , ϕ , O , R_d) de un modelo hiperbólico rectangular a saturación lumínica (Lambers, 1998) según la ecuación 1.

$$A = \frac{\Phi \times I + A_{max} - \sqrt{(\Phi \times I + A_{max})^2 - 4 \times \Theta \times \Phi \times I \times A_{max}}}{2 \times \Theta} - R_d \quad [1]$$

Donde:

A: fotosíntesis neta [mol C m² seg⁻¹].

A_{max} : tasa máxima de asimilación de CO₂ a saturación de luz, [mol C m² seg⁻¹].

I: Intensidad de luz expresada como densidad de flujo de fotones [mol fotones m² seg⁻¹].

ϕ : Eficiencia fotosintética (basada en fotones absorbidos o incidentes).

O: Factor de curvatura

R_d : Respiración en oscuridad, [mol C m² seg⁻¹].

Para establecer los cambios morfológicos a nivel de tallos, hojas y raíces, se evaluó el grado de aclimatación de las hojas de 30 plantines (10 por nivel de cobertura) a través de la distancia máxima entre los bordes exteriores de hojas laterales opuestas (DMHO, figura 1 A y 1 B) y el área foliar específica (AFE) ambas de acuerdo a Letourneau *et al.* (2004). En el segundo y tercer año se seleccionaron 10 plantines de cada tratamiento y se secaron en estufa a 60 °C hasta alcanzar peso constante en las fracciones de biomasa de raíces, tallos y hojas. Con estas se calculó el cociente de biomasa aérea/subterránea.

Para establecer el efecto que tiene la acumulación de biomasa foliar sobre el crecimiento de los plantines se pesó la biomasa foliar del tercer año; y el incremento en biomasa se estimó utilizando los diámetros del año dos y año tres, con un modelo de biomasa total ajustado para este ensayo con los plantines de los tres tratamientos de cobertura (ecuación 2, R²=0,91; n=60).

$$\text{Biomasa total [g]} = 0,125 \times \text{diámetro [mm]}^{2,65} \quad [2]$$

Se empleó un análisis de varianza ($\alpha = 0,05$) para analizar tanto los cambios en los parámetros fotosintéticos de la ecuación 1 (A_{max} , ϕ , O y R_d), como los parámetros de aclimatación a nivel de planta y hoja (tallo/raíz, AFE, DMHO). Estos resultados se presentan en la tabla 2. También se analizó la correlación de Spearman (P -valor $< 0,05$), entre la biomasa de hojas y el incremento anual en biomasa total.

Experimento 2

En el experimento 2 se evaluó la respuesta en crecimiento y la mortalidad al trasplante de plantines con características morfológicas (hojas y plantas) similares a los plantines de media y alta cobertura del experimento 1. Estos fueron trasplantados en dos condiciones contrastantes de insolaración. El ensayo se estableció en la Reserva Forestal, en un sitio quemado e invadido por especies exóticas. Este lugar se caracteriza por presentar una pendiente suave ($< 5\%$), con un suelo desarrollado sobre una capa de ceniza volcánica, evolucionada en un clima húmedo, con un perfil A/AC/C de textura franco arenosa fina de baja densidad aparente ($< 0,90 \text{ g/cm}^3$), bien provisto de materia orgánica superficial (5 a 8%), y alta retención de fosfatos ($> 85\%$) con buena permeabilidad, bien drenado con un leve déficit hídrico estival superficial (Basil *et al.*, 2013). Con posterioridad al incendio el área fue colonizada por *Betula alba* (3 – 5 m de altura), presentando un denso sotobosque de *Rosa eglanteria* y *Rubus sp.* Allí se abrió, con la ayuda de un tractor y una trituradora, una faja de tres metros de ancho y cien metros de longitud con dirección este-oeste. El trasplante se realizó sobre los bordes de la faja (borde norte: micrositio 1 y borde sur: micrositio 2), cuya orientación presentan condiciones microclimáticas contrastantes para el desarrollo de los plantines. Por una parte, en el primer caso la medición de la fracción de PAR sobre 10 puntos equidistantes a lo largo del micrositio 1 resultó en un nivel de insolaración moderado con un valor promedio de PAR de 42%, y valores mínimos y máximos de 8% y 75% respectivamente, y un desvío estándar de 22%. Por otra parte, en el micrositio 2 se determinó que su nivel de insolaración era alto con un PAR promedio de 75%, y valor mínimo y máximo de 43% y 96% respectivamente, con un desvío estándar de 15%.

El diseño de este ensayo fue bifactorial (tipo de plantín y micrositio) con dos niveles cada uno, lo que resultó en cuatro tratamientos, con 5 réplicas cada uno, totalizando 20 unidades experimentales. La asignación de los tipos de plantas y micrositio para cada unidad experimental se realizó de forma aleatoria. Cada unidad experimental estuvo compuesta por 6 hoyos de plantación dispuestos en línea recta, y una separación entre hoyos de 100 centímetros. En cada hoyo se trasplantaron tres plantines dispuestos en los vértices de un triángulo equilátero de treinta centímetros de lado. Este experimento contó con un $n=360$ plantines trasplantados (3 plantines/hoyo x 6 hoyos/unidad experimental x 20 unidades experimentales=360 plantines).

En cada planta se midió el diámetro de cuello y estado

(vivo o muerto) al iniciar la primavera y en otoño empleando un calibre digital de 0,001 mm de precisión. A mitad de la temporada de crecimiento se desmalezó de forma manual por única vez. Durante el período primavera–otoño la precipitación en la estación meteorológica INTA localizada a 2,7 km del ensayo fue de 169 mm, que representa 2,3 veces más que el promedio de la serie histórica 1953-2011, Letourneau *et al.*, 2016).

Los plantines para este experimento se cultivaron en el invernáculo de la Escuela Agro Técnica N° 717, de Cerro Radal, Lago Puelo, provincia de Chubut. El invernadero tenía como cobertura una lámina de polietileno tipo cristal de 150 micrones con una transmitancia aproximada del 75% en horas del mediodía. Los plantines fueron sembrados en almacigueras y repicados al finalizar el primer año a bandejas con contenedores de 265 cm^3 de capacidad, con un sustrato de biosólidos compostados de acuerdo a Basil *et al.* (2009), y mantenidos en estos envases durante un año más hasta el momento de trasplante a campo. Los plantines tipo 1 estuvieron sometidos a las condiciones de iluminación generales del invernadero. Mientras que los plantines tipo 2 se cultivaron en un sector donde se colocó una malla media sombra de forma simple. En vivero, las características de los plantines tipo 1 y tipo 2 se evaluaron mediante un muestreo de altura y diámetro ($n=36$), y se seleccionaron cuatro individuos de cada grupo sobre los que se describió la morfología de hojas, tallos y raíces de forma similar al experimento 1.

Para analizar los resultados del experimento 2 se ajustaron un conjunto de modelos lineales de efectos mixtos (ecuación 3, tabla 1). Estos modelos establecen una relación entre los factores o variables predictoras (efectos fijos: micrositio y tipo de plantín, efectos aleatorios o covariables: tamaño del plantín “d0” e intensidad lumínica de la unidad experimental “iL”) y las respuestas observadas (mortalidad “m” y/o crecimiento “c”). Además permiten dar cuenta de las variaciones (efectos aleatorios) y/o falta de independencia entre las observaciones, propias del diseño experimental cuando los datos se presentan agrupados, por ejemplo tres plantines dispuestos en un mismo hoyo de plantación (“subp”) y a su vez estos hoyos agrupados por unidad experimental (“p”).

Cada uno de los modelos de la tabla 1 representa una hipótesis en relación con los factores que influyen sobre el comportamiento de los plantines. El proceso de prueba de hipótesis consiste en comparar entre sí dos modelos, donde uno es un caso especial del otro (modelo nulo vs. alternativo) a partir de un test de cociente de verosimilitud (LRT, por sus siglas en inglés Lewis *et al.*, 2011) que identifica cual de ambos modelos comparados representa con mayor exactitud los valores observados.

En primer lugar se probó la significancia de las covariables tamaño del plantín, “d0”, e intensidad lumínica en el sitio de trasplante “iL”, en relación con la hipótesis de que estas no influyen sobre la mortalidad “m” y/o el crecimiento “c” ($H_0 1$, $H_0 3$; modelos 1 a 3, y modelos 7 a 9 respectivamente, tabla 1 y tabla 3). En segundo lugar se probaron las hipótesis que relacionan los factores microsi-

tio y tipo de plantín con la mortalidad y el crecimiento en el trasplante (Ho 2, Ho 4; modelos 4 a 6, y modelos 10 a 12 respectivamente, tabla 1 y tabla 3), con la incorporación del efecto de las covariables significativas probadas con anterioridad. Los modelos se ajustaron con el programa R (R Core Team, 2013), y el paquete lme4 (Bates *et al.*, 2014). La variable de respuesta mortalidad "m" es de carácter binario (muerto/vivo) por ello se utilizó una función de ligamiento binomial para el ajuste del modelo. Además se realizaron pruebas de suma de rangos de Wilcoxon ($P < 0,05$) para probar si existen diferencias en las distribuciones de frecuencia de tamaño ("d0", diámetro del plantín al momento de trasplante), entre niveles del efecto (micrositio 1 y 2 o tipo de planta 1 y 2).

$$y = X\beta + Zu + e \quad [3]$$

Donde:

y : vector variable de respuesta de $n \times 1$ observaciones ("m", 1:muerto, 0: vivo; "c" variable continua), X : vector de variables predictoras ($n \times q$), β : coeficientes de efectos fijos, para determinar mediante el ajuste del modelo, Z: diseño de los efectos aleatorios ($n \times p$), u: vector de efectos aleatorios (covariables "d0", "iL"), $u \sim N(0, G)$, e: error calculado como $e = y - (X\beta) + (Zu)$, $e \sim N(0, R)$, n: número de observaciones (360 plantines), q: número de variables predictoras (q = 2: micro sitio y tipo de plantín). p: número de unidades experimentales anidadas (p: subp).

RESULTADOS

Experimento 1

Las plantas presentaron cambios significativos asociados a la reducción de PAR (tabla 2). Se observó una disminución de la biomasa total al mismo tiempo que un aumento en la proporción asignada a las fracciones de tallos y hojas, y una reducción en el componente de raíces (tabla

2). A nivel de hojas la reducción de PAR se reflejó en un notable aumento de los indicadores morfológicos DMHO y AFE (tabla 2). A nivel fisiológico la tasa máxima de asimilación de C (A_{max}), se redujo 30,2%, y la eficiencia fotosintética (ϕ) se incrementó en 3,37 veces como respuesta a la disminución de la intensidad lumínica (tabla 2). La productividad de los plantines estuvo altamente correlacionada con la biomasa foliar acumulada durante el experimento (Rho de Spearman=0,86*** $P < 0,001$).

Experimento 2

Las plantas tipo 1 y tipo 2 presentaron diferencias significativas en diámetro, con valores promedio y desvíos estándar de $3,3 \pm 0,35$ mm y de $2,8 \pm 0,32$ mm ($n=36$, $F=13,84$, $P < 0,01^*$), también se observaron diferencias significativas en altura total, $20,5 \pm 4,7$ cm y $26,3 \pm 4,9$ cm ($n=36$, $F=13,04$, $P < 0,001^{**}$), y en los valores de cociente altura/diámetro (a/d) de 62 ± 12 y 92 ± 14 para el plantín tipo 1 y 2 respectivamente ($n=36$, $F=46,56$; $P < 0,001^{**}$). Las hojas de los plantines también presentaron diferencias significativas en el indicador DMHO, con valores de $3,39 \pm 0,46$ mm para plantas tipo 1; y $5,32 \pm 0,72$ mm para tipo 2 ($n=10$; $F=25,39$; $P=0,001^{**}$). También se observó un incremento del orden de ramificación de las ramillas de los plantines tipo 1 (figura 1 A, primero, segundo y tercer orden de ramificación) en relación con las ramillas de los plantines tipo 2 (figura 1 B, primer y segundo orden de ramificación).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En los dos experimentos, la aclimatación a la intensidad lumínica produjo cambios, tanto en el proceso fotosintético como en la morfología de las plantas. En cuanto a la fotosíntesis, las plantas de cobertura nula del ensayo 1 tuvieron valores de A_{max} significativamente mayores que los de cobertura alta, pero una eficiencia en el uso de la luz menor (tabla 2, A_{max} , y ϕ , respectivamente). Estos cambios han sido

Modelo	Descripción del modelo
1	$m = (\text{micrositio} + \text{tipo de plantín}) \beta + (p:\text{subp}) u + e$
2	$m = (\text{micrositio} + \text{tipo de plantín}) \beta + (p:\text{subp}, d0) u + e$
3	$m = (\text{micrositio} + \text{tipo de plantín}) \beta + (p:\text{subp}, d0, iL) u + e$
4	$m = (\text{micrositio}) \beta + (p:\text{subp}, d0) u + e$
5	$m = (\text{tipo de plantín}) \beta + (p:\text{subp}, d0) u + e$
6	$m = (\text{micrositio} * \text{tipo de plantín}) \beta + (p:\text{subp}, d0) u + e$
7	$c = (\text{micrositio} + \text{tipo de plantín}) \beta + (p:\text{subp}) u + e$
8	$c = (\text{micrositio} + \text{tipo de plantín}) \beta + (p:\text{subp}, d0) u + e$
9	$c = (\text{micrositio} + \text{tipo de plantín}) \beta + (p:\text{subp}, d0, iL) u + e$
10	$c = (\text{micrositio}) \beta + (p:\text{subp}) u + e$
11	$c = (\text{tipo de plantín}) \beta + (p:\text{subp}) u + e$
12	$c = (\text{micrositio} * \text{tipo de plantín}) \beta + (p:\text{subp}) u + e$

Tabla 1. Modelos para las pruebas de Ho del experimento 2. Según lo definido en ecuación 3. Elaborado para la presente edición.

	Cobertura Nula	Cobertura Media	Cobertura Alta
Fracción RFA	100%	41%	8%
Fotosíntesis (n=8)			
Amax [$\mu\text{mol C m}^2/\text{seg}$]	4,3 \pm 0,72 a	-	3,0 \pm 0,38 b
Rd [$\mu\text{mol C m}^2/\text{sec}$]	0,05 \pm 0,3 a	-	0,41 \pm 0,3 a
ϕ [$\mu\text{mol C} / \mu\text{mol fotones}$]	0,008 \pm 0,003a	-	0,035 \pm 0,021b
Morfología de hoja y planta (n=30)			
AFE [m^2/kg]	6,7 \pm 1,5 a	8,8 \pm 0,7b	21,9 \pm 2,2 c
DMHO [mm]	3,8 \pm 1,5 a	5,0 \pm 0,4 b	7,8 \pm 0,2 c
cociente tallo / raíz	1,6 \pm 0,7 a	2,5 \pm 0,8 b	3,8 \pm 0,7 c
Biomasa total [g]	30,3 \pm 6,8 a	16,7 \pm 6,5 b	8,4 \pm 3,5 c
Biomasa de raíz [g]	12,2 \pm 4,3 a	5,3 \pm 3,0 b	1,8 \pm 1,0 c
Biomasa de tallo [g]	7,0 \pm 1,6 a	4,2 \pm 1,5 b	2,2 \pm 0,9 c
Biomasa de hojas [g]	11,1 \pm 1,7 a	7,2 \pm 2,4 b	4,4 \pm 1,8 c
Diámetro [mm] (d)	8,5 \pm 0,5 a	6,4 \pm 0,9 b	4,7 \pm 0,7 c
Altura [cm] (a)	32,4 \pm 7,1 a	36,4 \pm 7,6a	51,7 \pm 7,7 b
a / d [cm/cm]	38 \pm 8 a	57 \pm 10 b	110 \pm 14 c

Tabla 2. Parámetros ecofisiológicos y morfológicos de plantines aclimatados a la intensidad lumínica en el experimento 1. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos. Elaborado para la presente edición.

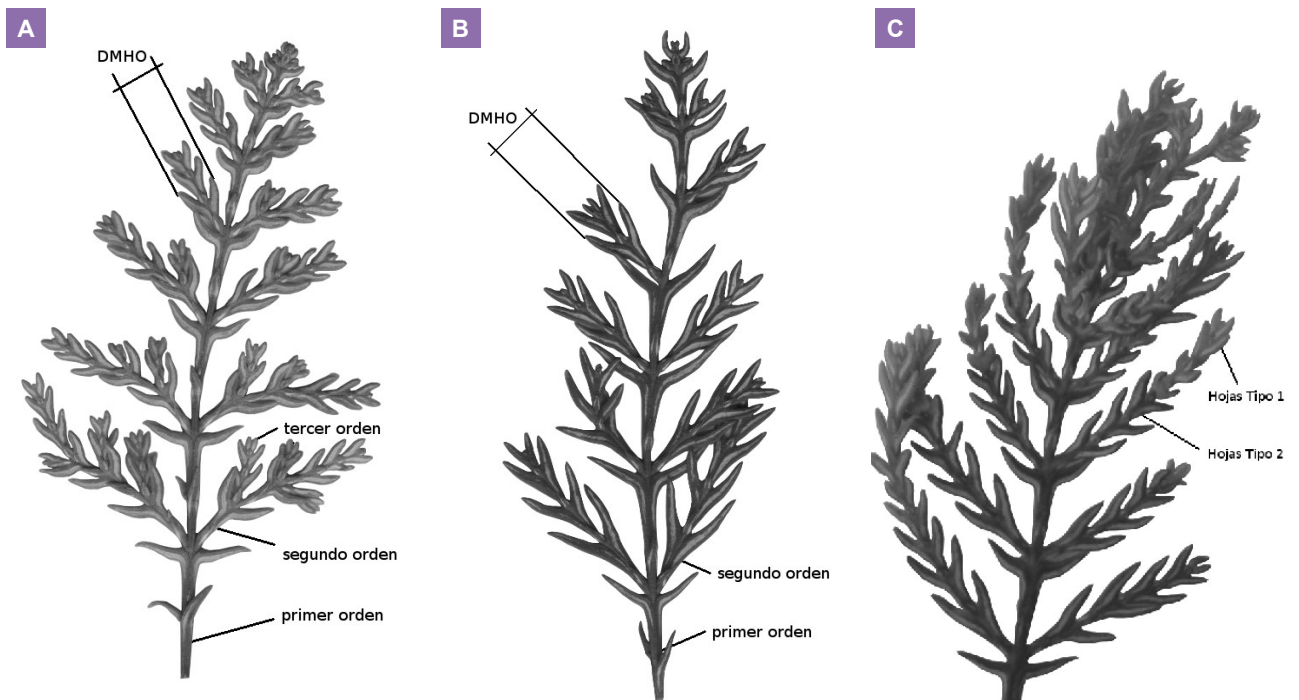


Figura 1. Fotografías de ramillas de plantines aclimatados a la intensidad lumínica. A: en vivero a niveles intermedios de intensidad lumínica (plantín tipo 1), B: en vivero a niveles bajos (tipo 2), C: en vivero a niveles bajos y en plantación a niveles altos de intensidad lumínica. DMHO: distancia máxima entre hojas opuestas. Elaborado para la presente edición.

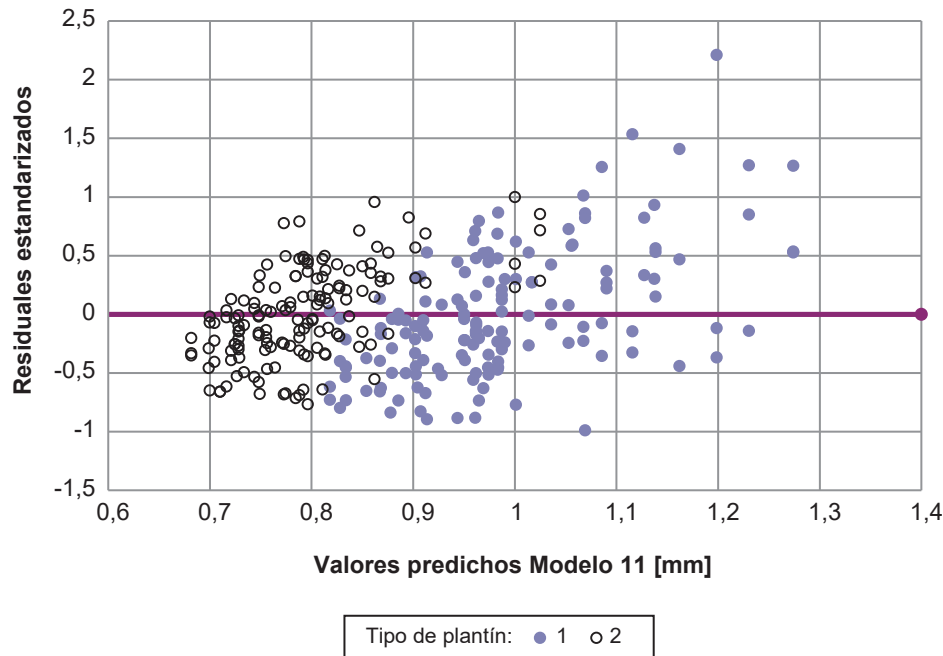


Figura 2. Dispersión de residuales estandarizados versus valores de “c” predichos por el modelo 11, para plantines tipo 1 y tipo 2. Editada para la presente edición.

observados para otras coníferas como *Picea abies* (Grassi y Minotta, 2000), *Picea rubens* (Alexander *et al.*, 1995) y latifoliadas como *Prunus serotina* (Abrams *et al.*, 1992), *Acer Sacharum* Marsh., y *Betula alleghaniensis* Britt (Delagrangé *et al.*, 2004), esto les permite a las plantas sobrevivir y utilizar de forma eficiente los recursos disponibles.

Los cambios morfológicos se detectaron tanto a nivel de hojas como de toda la planta. Las hojas de esta especie se caracterizan por presentar hojas escuamiformes y opuestas en pares decusados, con mayor desarrollo en sus hojas laterales (Dimitri, 1989) y existen diferencias en el tamaño y la coloración (datos no mostrados) en respuesta al proceso de aclimatación a la radiación solar. En ambos ensayos los plantines aclimatados a baja intensidad lumínica desarrollaron hojas más anchas que aquellos que lo hicieron a una mayor intensidad (para el experimento 1, tabla 2, DMHO 7,8 mm vs. 3,8 mm, para el experimento 2, 5,32 mm vs. 3,39 mm, y figura 1 B y 1 A respectivamente). Esta variación morfológica no debe interpretarse como aquella observada en la ontología de *A. chilensis* (Florin y Boutleje, 1954), sino que es el resultado de un alto grado de plasticidad fenotípica, que alcanza hasta 230% en AFE (tabla 2, 21,9 m² kg⁻¹ vs. 6,7 m² kg⁻¹) superando incluso a otras coníferas de bosques templados (Bond *et al.*, 1999). Esta variación en las características de las hojas también se observó a campo en el micrositio 2 de alta insolación sobre plantines aclimatados a la sombra, cuyas nuevas hojas contrastan con las desarrolladas en el vivero (figura 1 C).

Por una parte, las diferencias del cociente tallo/raíz son un efecto típico de plantas aclimatadas a distintos niveles de radiación (Waring y Schlesinger, 1985), y ha sido reportado en

otras investigaciones para la misma especie (Letourneau *et al.*, 2004; Letourneau, 2006; Urretavizcaya y Deffosé, 2012; Pafundi *et al.*, 2014). El incremento de la proporción de biomasa en componentes aéreos permite a las plantas incrementar la intercepción de radiación solar, aunque esto es acosta de reducir su capacidad de absorción de agua y nutrientes (tabla 2, cociente tallo/raíz = 3,8 para cobertura alta vs. 1,6 para cobertura nula). Por otra parte, el uso de mallas media sombras estimuló la elongación de los entrenudos de los tallos resultando en plantas más altas (experimento 1 tabla 2, 32,4 cm vs. 51,7 cm; y experimento 2, 20,5 cm vs. 26,3 cm para plantas soleadas y sombreadas respectivamente). Este efecto es una respuesta, mediada por fitocromos, a un cambio en la distribución del espectro del rojo/rojo lejano (Ballaré *et al.*, 1991), que tiene implicancias en la forma en que las plantas evitan la sombra o la competencia (Aphalo *et al.*, 1999).

El análisis LRT de los modelos 1 a 6 (tabla 1) muestra que el micrositio es relevante para explicar las tasas de mortalidad observadas, y que debe tenerse en cuenta el tamaño de la planta (“m”, tabla 3, Ho – 2, modelo 4 y modelo 2). El modelo 4 predice que la tasa de mortalidad al trasplante fue menor sobre el borde norte de la faja y mayor en el borde sur con alta insolación (5,5% vs. 13,2%, respectivamente). El grado de aclimatación a la radiación en vivero no influyó sobre la mortalidad (tabla 3, Ho – 2, modelo 4), de forma similar a lo reportado por Pastorino y Gallo (2005). Sin embargo, los plantines aclimatados a un menor nivel de radiación fueron más frecuentes en el cuartil superior de la distribución de tamaños de plantas muertas (Prueba de Wilcoxon, W = 80, P = 0,01*), ya que presentan un cociente tallo/raíz que las predisponen a la muerte por estrés hídrico (Leiva y Fernández – Alés, 1998).

Ho - 1) d0 e iL no influyen sobre la mortalidad.	modelo 1	modelo 1 vs. modelo 2	modelo 2 vs. modelo 3
Se rechaza parcialmente,	g.l. = 4	g.l. = 4	g.l. = 4
d0 si afecta la mortalidad.	AIC = 215,46	AIC = 114,11	AIC = 114,11
(modelo 2)		$\chi^2 = 101,35$	$\chi^2 = 0,00$
		P-valor < 0,001 ***	P-valor = 1,00
Ho - 2) El microsítio y tipo de plantín afectan la mortalidad.	modelo 4	modelo 4 vs. modelo 5	modelo 2 vs. modelo 5
Se acepta parcialmente.	g.l.= 3	g.l. = 3	g.l. = 4
El microsítio si afecta la mortalidad.	AIC = 112,17	AIC = 112,35	AIC = 114,11
(modelo 4)		$\chi^2 = 0,00$	$\chi^2 = 0,24$
		P-valor = 1,00	P-valor = 0,62
Ho - 3) d0 e iL no influyen sobre el crecimiento.	modelo 7	modelo 7 vs. modelo 8	modelo 8 vs. modelo 9
Se acepta.	g.l. = 5	g.l. = 6	g.l. = 7
(modelo 7)	AIC = 476,89	AIC = 478,89	AIC = 479,62
		$\chi^2 = 0,0$	$\chi^2 = 1,26$
		P-valor = 1,00	P-valor = 0,26
Ho - 4) El microsítio y tipo de plantín influyen sobre el crecimiento.	modelo 10	modelo 10 vs. modelo 11	modelo 11 vs. modelo 7
Se rechaza parcialmente. Solo el tipo de plantín afecta el crecimiento.			
(modelo 11)	g.l. = 4	g.l. = 4	g.l. = 5
	AIC = 482,6	AIC = 475,12	AIC = 476,89
		$\chi^2 = 7,48$	$\chi^2 = 0,23$
		P-valor < 0,001 ***	P-valor < 0,63

Tabla 3. Pruebas de Ho mediante LRT para probar el efecto del microsítio y tipo de plantín sobre la mortalidad y el crecimiento del experimento 2. Elaborado para la presente edición.

Por una parte, en relación con el crecimiento postrasplante (tabla 1, modelos 7 a 12) no se observó que hubiese una influencia del tamaño del plantín (“d0”), ni de otras condiciones del microsítio (tabla 3, Ho – 3, modelo 7). Las variaciones observadas se explicaron de forma significativa por el nivel de aclimatación en vivero. Este modelo explica que las plantas que en vivero se aclimatan a niveles altos de radiación solar, luego en el trasplante crecen más que aquellas plantas que lo hicieron a un nivel menor (figura 2, “c”, 0,98 mm vs. 0,79 mm, tabla 3, Ho – 4, modelo 11). Por otra parte, los modelos 6 y 12 refieren a la interacción entre el microsítio y tipo de plantín para la variable de respuesta “m” y “c” respectivamente. En ambos casos no se observó que hubiese una interacción significativa entre los tratamientos (resultados no presentados).

En vivero las plantas de *A. chilensis* se aclimatan al nivel de radiación solar, modificando su forma y fisiología fotosintética, y esto afecta su crecimiento y predisposición a la mortalidad en trasplante. Cuando los niveles de radiación son bajos las plantas incrementan la proporción de biomasa asignada a tallos y hojas en contraposición a las raíces, desarrollan mayor área foliar por unidad de biomasa, e incrementan la eficiencia de uso de la luz, como forma de compensar la falta de radiación, sin embargo, crecen menos. Cuando este tipo de plantas son trasplantadas en condiciones de alta radiación aumenta su probabilidad de muerte por estrés hídrico, por ello

es crítico proveer de una protección. Por el contrario cuando la radiación solar es alta las plantas acumulan mayor cantidad de biomasa, ya que poseen una alta tasa de fotosíntesis máxima, y la fijación de carbono la invierten proporcionalmente más en raíces que en tallos y hojas. Esto las prepara para tolerar el estrés hídrico. La forma de las hojas (DMHO) y de la planta (a/d) puede emplearse como indicadores para evaluar su grado de aclimatación. Se acepta la hipótesis propuesta de que la aclimatación a la intensidad lumínica en etapa de vivero afecta características morfológicas y ecofisiológicas de plantines de *A. chilensis*, que son críticas para sobrevivir y crecer al trasplantarlas. La condición microambiental en el trasplante afecta a los plantines de forma diferenciada, según su grado de aclimatación en vivero.

La utilización de plantas aclimatadas en vivero a condiciones de alta radiación puede contribuir al crecimiento inicial en plantación, aunque de todas formas es necesario proveerles una protección ya sea natural o por tratamiento (Varela *et al.*, 2016).

El desarrollo de un sistema de crianza de plantines que facilite el manejo de la intensidad lumínica puede contribuir al buen uso de los recursos destinados a la reforestación y restauración con esta especie. Para ampliar los alcances de este estudio es necesario estudiar el efecto que tiene la aclimatación a la luz

sobre el comportamiento estomático de *A. chilensis* y ensayar distintos métodos de preparación del sitio al trasplante.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue posible por el apoyo del CONICET, INTA - PNFOR 1104082, PNFOR 1104074, PATNOR 1281101. Personal de Campo Ftal. San Martín EEA Bariloche. Alumnos de la Esc. Agrot. 717 Co. Radal. Ing. Agr. Dolores Errasti por proveer plantines del tipo 2, Msc Ing. Agr. Teresa Boca de CIRN INTA y Dr. Corina Graciano de INFIVE – CCT CONICET por sus aportes para mejorar este manuscrito. A dos revisores anónimos por sus aportes para mejorar la presentación de esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- ABRAMS, M.D.; KLOEPEL, B.D.; KUBISKE, M.E. 1992. Ecophysiological and morphological responses to shade and drought in two contrasting ecotypes of *Prunus serotina*. *Tree Physiology*, Vol 10 (343):355.
- ALEXANDER, J.; DONNELLY, J.R.; SHANE, J. 1995. Photosynthetic and transpirational response of red spruce understory trees to light and temperature. *Tree Physiology* 15, 393-398.
- APHALO, P.J.; BALLARÉ, C.L.; SCOPEL, A.L. 1999. Plant – plant signalling, the shade avoidance response and competition. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 50 N.º 340, 1629-1634 pp.
- BALLARÉ, C.L.; SCOPEL, A.L.; SÁNCHEZ, R.A. 1991. Photocontrol of stem elongation in plant neighbourhoods: effects of photon fluence rate under natural conditions of radiation. *Plant, Cell and Environment* 14, 57-65.
- BASIL, G.; MAZZARINO, M.J.; ROSELLI, L.; LETOURNEAU, F.J. 2009. Efecto del compost de biósólidos en la producción de plantines de *Austrocedrus chilensis* (ciprés de la cordillera). *Ciencias Del Suelo (Argentina)* 27(1), 49-55 pp.
- BASIL, G.; LETOURNEAU, F.J.; ANTOCI, V.; ANCALAO, M.; COBELO, C.; RUSCH, V.; AYESA, A.; UMAÑA, F.; SARASOLA, M.; CUEVAS, J.; DE AGOSTINI, N.; CLAPS, L.; ANDENMATTEN, E. 2013. Plan de uso múltiple de la Reserva Forestal "Loma del Medio – Río Azul". Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Bariloche, "Dr Grenville Morris". 189 p.
- BATES, D.; MAECHLER, M.; CHRISTENSEN, R.; SINGMANN, H.; DAI, B. 2014. Linear Mixed-effects models using Eigen and S4. (Disponible: <http://lme4.r-forge.r-project.org/> verificado: 02 de mayo de 2016).
- BOND, B.J.; FARNSWORTH, B.T.; COULOMBE, R.A.; WINNER, W.E. 1999. Foliage physiology and biochemistry in response to light gradients in conifers with varying shade tolerance. *Oecologia*, 120, 183-192.
- DELAGRANGE, S.; MESSIER, C.; LECHOWICZ, M.J.; DIZEN-GREMEL, P. 2004. Physiological, morphological and allocational plasticity in understory deciduous trees: importance of plant size and light availability. *Tree Physiology* 24, 775-784.
- DIMITRI, M.J. 1989. Iconografía dendrológica: Árboles exóticos e indígenas de la Argentina. Consejo Profesional de Ingeniería Agronómica - Orientación Gráfica Editora. 91 p.
- FLORES ORTEGA, A.; MARTINEZ SOTO, G.; QUIROZ RAMIREZ, J.C.; DIAZ SERRANO, R.D.; ROMERO VALDEZ, M. 2012. Análisis de la transmitancia de luz en un invernadero para producción de jitomate. *Acta Universitaria* Vol 22 (1). Universidad de Guanajuato, México, 5-10 pp.
- FLORIN, R.; BOUTLEJE, J.B. 1954 External Morphology and Epidermal Structure of Leaves in the Genus *Libocedrus*, s. lat. *Acta Horti Bergiani*, Band 17. N.º 2. Uppsala, Almqvist & Wiksells Boktryckert AB.
- GRASSI, G.; MINOTTA, G. 2000. Influence of nutrient supply on shade-sun acclimation of *Picea abies* seedlings: effects on foliar morphology, photosynthetic performance and growth. *Tree Physiology* 20, 645-652.
- KITZBERGER, T.; STEINAKER, D.F.; VEBLEN, T.T. 2000. Effects of climatic variability on facilitation of tree establishment in northern Patagonia. *Ecology* 81 (7), 1914-1924.
- LAMBERS, H.; STUART CHAPIN, F.; PONS, T.L. 1998. *Plant Physiological Ecology* Springer, Berlin. 540 p.
- LEIVA, M.J.; FERNÁNDEZ-ALÉS, R. 1998. Variability in seedling water status during drought within a *Quercus ilex* subsp. *ballo-ta* population, and its relation to seedling morphology, *Forest Ecology and Management*, Vol. 111, Issues 2-3, 7, 147-156 pp.
- LETOURNEAU, F.J. 2006. Estudio de las interacciones positivas y negativas sobre el crecimiento de *A. chilensis* durante la etapa inicial de desarrollo, en un matorral sucesional méxico. Trabajo de Tesis para optar al título de Dr. en Cs. Biológicas. CRUB. UNCO. 176 pp.
- LETOURNEAU, F.; ANDENMATTEN, E.; SCHLICHTER, T.M. 2004. Effect of climatic conditions and tree size on *Austrocedrus chilensis*-shrub interactions in northern Patagonia. *For. Eco. Management*, 191(1-3), 29-38.
- LETOURNEAU, F.J.; BASIL, G.; KLASMER, P. 2016. Serie de Datos de Precipitación Las Golondrinas, 1953 – 2011. Comunicación Técnica Nro. 28. Agrometeorología, Serie Comunicaciones Técnicas. 7 p.
- LEWIS, F.; BUTLER, A.; GILBERT, L. 2011. A unified approach to model selection using likelihood ratio test. *Methods in Ecology and Evolution*. Vol. 2, 155-162 pp.
- MCMAHON, M.J.; KELLY, J.W.; DECOTEAU, D.R. 1990. Spectral Transmittance of selected Greenhouse Construction and Nursery Shading Material. *J. Environ. Hort.* 8(3):118-121.
- NININEMETS, U.; KULL, O.; TENHUNEN, J. 1998. An analysis of light effects on foliar morphology, physiology, and light interception in temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance. *Tree Physiology* 18, 681-696.
- PAFUNDI, F.; URRETAVIZCAYA, F.; DEFOSSÉ, G.E. 2014. Improving survival and growth of planted *A. chilensis* seedlings in disturbed patagonian forests of Argentina by managing understory vegetation. *Envir. Management*. Vol 54 (6) 1412 – 1420 pp.
- PASTORINO, M.J.; GALLO, L.A. 2005. Supervivencia en plantación sin protección de plántulas de *A. chilensis* criadas a insolación directa (resumen). I Reunión sobre ecología, conservación y uso de los bosques de ciprés de la cordillera, 28-30 abril, Esquel.
- PERDOMO, M.; ANDENMATTEN, E.; BASIL, G.; LETOURNEAU, F.J. 2009. La Gestión de la Reserva Forestal Loma del Medio – Río Azul (INTA-SFA). *Rev. Presencia* Nro. 54. 23-26 pp.
- R CORE TEAM (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, (Disponible: <http://www.R-project.org/> verificado: 02 de mayo de 2016).
- SHAREW H.; GRACE J.; LEGG, C. 1996. Response of two Afro-montane coniferous tree species to light and nutrient supply. *Tree Physiology* 16, 617-626 pp.
- URRETAVIZCAYA, M.F.; DEFOSSÉ, G.E. 2012. Effects of nurse shrubs and tree shelters on the survival and growth of two *A. chilensis* seedling types in a forest restoration trial in semiarid Patagonia, Argentina. *Annals of For. Science*.
- VARELA, S.; WEINGANDT, M.; WILLEMS, P.; BIANCHI, E.; DIEZ, J.P.; GYENGE, J. 2016. Physiological status of conifer seedlings treated with radiation, drought and frost stress mitigation techniques: a laboratory assessment. *New Forests* 47:87-103. DOI 10.1007/s11056-015-9485-5
- WARING, R.H.; SCHLESINGER, W.H. 1985. *Forest Ecosystems. Concepts and Management*. Academic Press, Nueva York, 340 p.

Efecto de diferentes tipos de cosecha sobre la calidad tecnológica de la fibra de algodón en cultivos de alta densidad

TARRAGÓ, J.R.^{1,2}; COLLI, S.L.²; NADAL, N.J.¹; GIMENEZ, L.²

RESUMEN

Desde la introducción en la Argentina de los sistemas de producción de algodón en surcos estrechos la superficie de cosecha con plataformas recolectoras de tipo stripper ha aumentado y se han desarrollado variados sistemas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad tecnológica de la fibra en algodones conducidos bajo sistema de surcos estrechos y recolectados bajos diferentes sistemas stripper y su comparación con el sistema picker. A partir del desmote de cada unidad experimental se individualizaron los fardos de fibras producidos y se analizaron por (HVI), obteniéndose valores de Longitud, Resistencia, Uniformidad, Micronaire, Elongación, y color a través de Rd y +b, con estos datos se construyeron tablas de frecuencias según los intervalos de clasificación para cada parámetro de calidad. El análisis de la distribución de frecuencias de los parámetros más significativos que determinan la calidad de la fibra de algodón permitieron detectar mínimos cambios en las distribuciones y estos no modificaron el intervalo de clase con mayor frecuencia, lo que no implicaría cambios en la calidad tecnológica de la fibra cosechada con distintos sistemas de cosecha stripper en relación con la cosecha picker. Los cambios en la distribución fueron mayores cuando el ensayo se realizó en condiciones de secano debido a un menor control de la fructificación del cultivo por lo que pone de relevancia el manejo de este en los sistemas que se cosecharan con sistemas stripper.

Palabras clave: sistemas de cosecha, stripper, picker, calidad de fibra, algodón.

ABSTRACT

Cotton fiber characteristics are influenced by the genetic and environmental factors, such as management, climate maturation, and significantly by harvesting conditions. The objective of this study was to analyze the variables of cotton fiber characteristics depending on the, picker, and stripper harvest systems, in narrow row cotton system. The experiments are conducted for five seasons in Argentina. The two first season in watering crop a de the tree last at rainfall. The cotton samples, taken from the stored basket of harvesters, were derived by mechanical systems harvesting. The analysis of the frequency distribution of the most significant parameters that determine the quality of the cotton fiber allowed to detect minimum changes in the distributions and these did not modify the class interval more frequently, which would not imply changes in the technological quality of the fiber harvested with different systems of harvesting stripper in relation to the

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Las Breñas Ruta 89 km 227, Las Breñas, Chaco, Argentina. Correo electrónico: tarrago.jose@inta.gob.ar

²Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), Facultad de Ciencias Agrarias. Sargento Cabral 2131 Corrientes, Argentina.

picker. The changes in the distribution were greater when the test was carried out in rainfed conditions due to a lower control of the fruiting of the crop, which makes the management of the crop relevant in systems that were harvested with stripper systems

Keywords: *harvesting systems, fiber length, fiber quality, Gossypium hirsutum, frequency distribution.*

INTRODUCCIÓN

En los últimos años Argentina ha experimentado un cambio de sistema de producción de algodón, pasando de cultivos con una población de plantas de aproximadamente 10 por m² y un distanciamiento entre hileras de 1 m a cultivos en surcos estrechos (distancias entre hileras de 0,52 m) y ultra estrechos menores a 0,52 m entre hileras con densidades que rondan las 20 a 25 plantas por m². Asociado a estas modificaciones en los sistemas de producción se observaron cambios en los sistemas de cosecha (Korytko, 2016).

En el mundo existen diversos sistemas de producción de algodón como así también de cosecha coexistiendo la recolección manual y la mecanizada en sus diversas formas (Bradow y Davidonis, 2000). La cosecha mecanizada de algodón en el mundo estuvo tradicionalmente relacionada con el diseño de cultivo que se utilizaba: los algodones sembrados a distanciamientos mayores de 0,52 m entre hileras se cosechaban con sistema tipo picker (con husillos) y los algodones sembrados a distanciamientos de 0,52 o menores se cosechaban con sistemas tipo arrancadoras stripper (Hughes *et al.*, 2010).

El sistema de cosecha picker cuenta con cuerpos de cosecha integrados por un juego de dos tambores giratorios por surco, regulables en altura y que giran sobre sus ejes verticales en sentido contrario; contienen husillos que, al girar sobre sus ejes, enrollan la fibra de las cápsulas al enfrentar las plantas, liberándola posteriormente al alejarse de ellas (Willcutt *et al.*, 2010). Al contrario de este, el sistema stripper posee una plataforma regulable en altura constituida por puntones que "peinan" las plantas arrancando las cápsulas enteras (Wanjura *et al.*, 2010). La imposibilidad de cosechar cultivos bajo sistema de producción en surcos estrechos cambio a partir del año 2011 en el que irrumpieron en el mercado argentino cosechadores tipo picker con posibilidades de recolectar con elevada eficiencia algodones sembrados a 0,38 m de distanciamiento entre hileras (<http://www.deere.com>).

A nivel mundial el sistema de producción de algodón que predomina es el convencional con densidades de 5 a 8 plantas por m² en los cuales se realiza la cosecha en forma manual o con máquinas despojadoras tipo picker (Hughes *et al.*, 2010). Sin embargo, algunas otras regiones del mundo caracterizadas por una estación de crecimiento corta como en la planicie de riego de Texas en los Estados Unidos y en una gran proporción de Argentina se siembran en surcos estrechos con distanciamientos de 0,52 m entre hileras o menores y densidades de 20 a 25 plantas por m²,

cosechando, los mismos con sistemas recolectores tipo arrancadora o stripper, lo que logra incrementar los rendimientos en fibra como consecuencia del mejor uso de la radiación, de los recursos disponibles, y bajar el costo de cosecha (Wanjura *et al.*, 2010; Boman *et al.*, 2011).

En el país existen varios modelos de plataformas recolectoras tipo stripper montadas sobre viejas cosechadoras de algodón o construcciones locales de arrastre y accionadas por la toma de fuerza del tractor las cuales poseen pocas variaciones entre ellas. Todas funcionan "arrancando" las cápsulas con la fibra mediante puntones con variaciones en cuanto a los sistemas de limpieza, incorporación de uno o más sistemas de limpieza con cepillos similares a los limpiadores instalados en las desmotadoras. Este sistema posee algunas ventajas, como el bajo costo de la máquina y la simplicidad de este que implica prescindir de mano de obra especializada para su uso, traduciéndose esto en una disminución significativa en los costos de cosecha (Wanjura *et al.*, 2010).

En la Argentina el último relevamiento del parque de equipos cosechadores de algodón muestra que el 64% de estos corresponden a equipos adaptados a cosecha en sistema de producción en surcos estrechos con una capacidad de trabajo estimada en 53% de la capacidad de cosecha total del parque (Bela y Villalba, 2011). El algodón, al ser un cultivo industrial, el valor de la fibra estará determinada por su calidad, la cual es función de la genética, el ambiente, la interacción entre ambos, las prácticas de manejo del cultivo, del sistema de cosecha utilizado y de la adecuada operación de desmote (separación mecánica de la fibra de la semilla) (Bradow y Davidonis, 2000). Una vez realizada la cosecha los demás factores ya están fijados y la calidad final de la fibra dependerá exclusivamente del almacenamiento, de las operaciones de desmote y de los procesos de limpieza que tenga la planta desmotadora.

La calidad de la fibra de algodón se mide mediante instrumentos de alto volumen (HVI en sus siglas en inglés) considerando los siguientes parámetros: Índice Micronaire (MIC) o peso de la fibra por unidad de longitud: es una medida de la finura y madurez de la fibra variando en el rango de 3,5 a 4,9. Longitud de Fibra (LEN): expresa la longitud promedio en mm de la mitad más larga de las fibras, y es medida pasando un "mechón" de fibras paralelizadas a través de un punto de detección lumínica; el valor base es 27,0 mm. Índice de Uniformidad de la Longitud (UNF): es la relación entre la longitud media y la longitud media de la mitad superior de las fibras y es expresada como un porcentaje. Resistencia (STR): las mediciones de resistencia

son informadas en términos de gramos por tex, que es la fuerza en gramos requerida para romper una “mechón” de fibras de un tex de tamaño. Color: el color del algodón es determinado por el grado de reflectancia (Rd) y el Índice de amarillez (+b) la cual indica cuánto brillo o apagamiento tiene una muestra y el grado de pigmentación de color (USDA 1999). En este sentido el color de las fibras de algodón puede ser afectado por lluvias, heladas, insectos y hongos, y por manchado a través del contacto con el suelo, pastos, u hojas de la planta de algodón (Bradow y Davidonis, 2000; USDA, 1999).

Considerando los distintos sistemas de recolección (picker y stripper) cabe presuponer que los niveles de impurezas que se transportarán a la desmotadora son diferentes; estos son mayores en el algodón cosechado con el sistema stripper (con puntones y equipo de prelimpieza) y menores en el algodón cosechado con sistemas picker. El efecto real del sistema de cosecha sobre las propiedades tecnológicas de las fibras es aún motivo de controversia. Montenegro *et al.* (2007) evaluaron comparativamente una máquina de cosecha picker versus una de cosecha stripper con sistema de soplado, encontraron únicamente cambios en el índice de micronaire en el que la cosecha stripper tendría un índice de micronaire menor por realizar la recolección no diferenciada incluyendo cápsulas inmaduras. Otros autores trabajando en la comparación entre los dos sistemas de cosecha en la planicie de Texas reportaron diferencias únicamente en el color, atribuyendo una coloración más amarillenta al algodón que se cosecha con sistemas stripper por el manchado que producen las cápsulas inmaduras y verdes (Boman *et al.*, 2011).

Desde la introducción en la Argentina de los sistemas de producción de algodón en surcos estrechos la superficie de cosecha con plataformas recolectoras de tipo stripper ha aumentado y se han desarrollado variados sistemas con lo que se recolectan cultivos que en frecuentes ocasiones no fueron bien conducidos y como consecuencia de esto la calidad se ve alterada. Considerando esto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad tecnológica de la fibra en algodones conducidos bajo sistema de surcos estrechos y recolectados bajo diferentes sistemas stripper y su comparación con el sistema de recolección picker.

MATERIALES Y MÉTODOS

La primera etapa del trabajo consistió en la comparación de los parámetros de calidad de fibras recolectados con diferentes plataformas tipo stripper versus la cosecha picker (campañas 2011, 2012, y 2014), mientras que en la segunda etapa se analizaron las fibras producidas en lotes comerciales conducidos bajo sistema de producción en surcos estrechos y recolectados únicamente con plataformas tipos stripper (campañas 2016 y 2017) (tabla 1). En las campañas 2011 y 2012 el ensayo se realizó en el establecimiento Don Panos de la empresa UNITEC-AGRO, General Roca, dpto. Gral. San Martín, Chaco, (26° 15' 59.38" S - 59° 28' 57.84" O) sobre un lote de algodón sembrado con la variedad NuOpal Bt/RR (Genética Mandiyú) con distanciamiento entre hileras de 0,38 m, y una densidad de 21 plantas/m², conducido con la adición de riego suplementario. En las campañas 2014 las evaluaciones se realizaron

Sistema de cosecha ensayado	Campaña/Superficie				
	2010-2011 ha	2011-2012 ha	2013-2014 ha	2015-2016 ha	2016-2017 ha
Picker John Deere 9070	X	X	X	-	-
	2,5	2,5	13,5*	-	-
Stripper Dolbi Javiyú	X	X	X	X	X
	2,5	2,5	4,75	12	55
Stripper Argento autopropulsada	X	X	X	-	-
	2,5	2,5	4,75	-	-
Stripper Argento de arrastre	X	-	-	-	-
	2,5	-	-	-	-
Stripper Wouchuk	X	X	-	X	-
	2,5	2,5	-	12	-
Stripper Aurus	-	X	-	-	-
	-	2,5	-	-	-

Tabla 1. Sistemas de cosecha ensayados en las distintas campañas algodoneras. Superficie se refiere a la superficie cosechada por unidad experimental. *John Deere con adaptación para cosecha en cultivos sembrados a 0,52 m entre hileras.

Nota: Todos los sistemas de cosecha tipo stripper poseían sistema de prelimpieza operando en las condiciones habituales de los contratistas que realizan tareas de cosecha.

en la Estación Experimental INTA Las Breñas (27° 04' 03" S – 61° 03' 11" O) bajo condiciones de secano.

Para la comparación de los sistemas de cosecha se utilizó un diseño de bloques completamente aleatorizados con tres repeticiones mientras que en las evaluaciones de la distribución de frecuencias de algunos parámetros de calidad de fibra bajos sistema stripper se utilizaron en lotes comerciales sin repeticiones.

El algodón de cada una de las parcelas fue modulado y rotulado para ser enviado a la desmotadora. El desmote de los módulos en el primer y segundo año se realizó en la firma UNITEC AGRO y el de los restantes años fue realizado en la desmotadora de la firma Buyatti ubicada en la localidad de Las Breñas. En todos los casos el desmote se realizó en forma independiente procediendo a la limpieza de la desmotadora cuando se cambiaba de tratamiento.

A partir del desmote de cada módulo se individualizaron los fardos de fibras producidos y de ellos se extrajo una muestra, la cual se analizó por (HVI), obteniéndose valores de Longitud (LEN), Resistencia (STR), Uniformidad (UNF), Micronaire (MIC), Reflectancia (Rd) y Amarillez (+b) para cada fardo la fibra obtenidas en cada unidad experimental o parcela, construyendo con cada una de estas variables tablas de frecuencias según los intervalos de clasificación para cada parámetro de calidad.

Manejo del cultivo y fechas de siembras

En la campaña 2010-2011 la siembra se realizó el 30 de noviembre de 2010, cosechándose los días 18, 19 y 20 de mayo del 2011, mientras que en la campaña 2011-2012 la siembra se realizó el 5 de diciembre de 2011, realizándose la cosecha entre los días 17 y 18 de mayo del 2012.

En el tercer año (campaña 2013-2014), cuarto (campaña 2015-2016) y quinto (campaña 2016-2017) las siembras se realizaron el 12 de diciembre del 2013, el 15 de noviembre del 2015 y el 21 de noviembre del 2016 y las cosechas el 25 de junio, 21 de junio y el 13 de abril respectivamente. En las tres últimas campañas la variedad utilizada fue NuOpal (Bt/RR) y las parcelas fueron sembradas a 0,52 m de distanciamiento entre hileras con una densidad de siembra de 14 semillas por metro lineal y una densidad de plantas a cosecha de alrededor de 21 plantas por m².

En todas las campañas el control de plagas se realizó de acuerdo a la densidad de la población plaga presente. El manejo del crecimiento del cultivo se efectuó mediante la aplicación de reguladores de crecimiento tendiendo a lograr una longitud de entre nudos de 3,5 a 4 cm con una altura final de planta de 0,7 a 0,9 m. Antes de realizar la cosecha, el cultivo fue defoliado mediante la aplicación de Thidiazuron 12% + Diuron 6% en dosis de 555 ml/ha + Metsulfurón Metil 5 g/ha. Al momento de la cosecha en todos los años el cultivo se presentaba completamente defoliado.

La cosecha con las plataformas tipo stripper se realizó en un ángulo de 45° con respecto a la dirección de siembra

para no producir atasques y las máquinas utilizadas fueron de empresas prestadoras de servicios.

Análisis estadístico

Para todas las variables de calidad de los fardos de fibra se construyó una tabla de frecuencias con cuatro clases, y el valor de frecuencia relativa para cada clase, agrupado por parámetro de calidad y sistema de cosecha (Montenegro *et al.*, 2007). Para la evaluación de cambios en la distribución de frecuencias se realizó un análisis de normalidad Shapiro-Wilk para cada parámetro y sistemas de cosecha. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Infostat versión 2011 (Di Rienzo *et al.*, 2010). Se consideró que la cosecha afectó un determinado parámetro de calidad cuando este cambia su distribución de frecuencia respecto a la cosecha picker.

RESULTADOS

El primer año de ensayo se pudieron observar diferencias en la distribución de frecuencias de los parámetros de calidad correspondientes a longitud, uniformidad y reflectancia en los sistemas stripper respecto al sistema picker. En este sentido la distribución de los fardos obtenidos a partir de la cosecha de la plataforma Javiyú mostraron diferencias para el parámetro longitud, mientras que el resto de los equipos evidenciaron diferencias en la uniformidad y la reflectancia. La distribución de la uniformidad varió en Aurus auto y Wouchuk, mientras que para la reflectancia los cambios fueron en los Aurus (Aurus autopropulsado, Aurus arrastre) y Wouchuk. Los parámetros de micronaire, resistencia y amarillez no registraron diferencias en la distribución de frecuencias (tabla 2). El sistema de cosecha stripper del equipo Javiyú produjo pequeños cambios en la distribución de la variable longitud presentando una fracción de aproximadamente el 10% de los fardos con una media de clase de 24,5 mm, fracción que no se observó en los fardos obtenidos de la cosecha tipo picker. La cosecha realizada mediante los sistemas Aurus autopropulsado y Wouchuk produjeron cambios en la distribución de frecuencias para la uniformidad, la que tradujo en un leve incremento de la proporción de fardos con uniformidad de la marca de clase de 78,1 inferior al intervalo de clase de 88,8%, el cual es el de mayor frecuencia. Del análisis de la variable color de la fibra medido a través del valor de reflectancia, se pudo observar variaciones en la distribución según método de cosecha, esta fue un intervalo de clase inferior en la mayoría de los sistemas de cosecha stripper respecto a la cosecha picker (tabla 2).

En el segundo año de evaluación las diferencias encontradas en los cambios de distribución fueron menores a las observadas en el primer año. Se registraron diferencias en los parámetros: micronaire, resistencia y reflectancia. Las modificaciones en la distribución del micronaire fueron observadas en todas las cosechas stripper y, los cambios en resistencia y reflectancia únicamente en la plataforma de Wouchuk en comparación a la cosecha tipo picker. Los pa-

Variable	Clase	Límite Inferior	Límite Superior	Marca de clase	Frecuencia relativa				
					Picker	Javiyú	Auros auto	Aurus arrastre	Wouchuk
MIC	1	3,40	3,83	3,61	0,04	0,07	0,11	0,33	0,05
	2	3,83	4,25	4,04	0,96	*** 0,93	*** 0,89	*** 0,67	*** 0,95
	3	4,25	4,68	4,46	0	0	0	0	0
	4	4,68	5,10	4,89	0	0	0	0	0
LEN	1	19,50	22,83	21,16	0	0	0	0	0
	2	22,83	26,15	24,49	0	ns 0,1	* 0	ns 0,11	ns 0,11
	3	26,15	29,48	27,81	0,96	0,9	1	0,89	0,89
	4	28,48	32,80	31,14	0,04	0	0	0	0
UNF	1	74,00	76,75	75,38	0	0	0,04	0,04	0
	2	76,75	79,50	78,13	0,33	ns 0,37	ns 0,32	** 0,26	ns 0,47
	3	79,50	82,25	80,88	0,67	0,63	0,64	0,7	0,53
	4	82,25	85,00	83,63	0	0	0	0	0
STR	1	23,0	26,0	24,5	0	0	0	0	0
	2	26,0	29,00	27,5	0,15	ns 0,23	ns 0,39	ns 0,56	ns 0,05
	3	29,00	32,50	30,5	0,56	0,77	0,43	0,37	0,84
	4	32,50	35,00	33,5	0,3	0	0,18	0,07	0,11
Rd	1	70	72,5	71,25	0,04	0,13	0,11	0,33	0
	2	72,5	75	73,75	0,07	** 0,7	** 0,89	ns 0,67	ns 0,37
	3	75	77,5	76,25	0,78	0,1	0	0	0,63
	4	77,5	80	78,75	0,11	0,07	0	0	0
+d	1	5	5,75	5,38	0,04	0	0	0	0,05
	2	5,75	6,5	6,13	0,81	*** 0,23	*** 0,43	* 0,41	*** 0,79
	3	6,5	7,25	6,88	0,11	0,77	0,57	0,59	0,16
	4	7,25	8	7,63	0,04	0	0	0	0

Tabla 2. Parámetros de calidad de fibra obtenidos por análisis de HVI analizados a través de sus frecuencias relativas para distintos sistemas de cosecha de algodón realizados en la Campaña 2010-2011.

rámetros: longitud, uniformidad y +b no registraron diferencias en la distribución de frecuencia respecto a la cosecha picker (tabla 3). El índice de madurez (MIC) en la cosecha tipo picker mostró el 53% de las fibras con valores de 4,2 y el 47% con valores de 4,7 de micronaire, mientras que en la cosecha stripper, en general, se pudo observar una mayor frecuencia en un intervalo de clase inferior fue del 93% en Javiyú, 94% en Aurus, y 97% en Wouchuk para el intervalo de clase de 4,2, mientras que el caso de la cosechadora Argento el 93% de los fardos correspondieron al intervalo de 3,6 (tabla 3).

En el tercer año de ensayo se observaron diferencias en la distribución de los parámetros longitud, uniformidad y reflectancia entre ambos sistemas (tabla 4). La longitud predominante de la cosecha tipo picker correspondió a la clase de 27,8 mm, en la que se encuentra el 95% de los fardos de fibra. Para la cosecha tipo *stripper* bajo sistema Javiyú y Argento, considerando el mismo parámetro, se pudieron visualizar dos frecuencias predominantes: para la

Javiyú un 59% de los fardos correspondían a la frecuencia media de 24,5 mm y el 41% restante para la frecuencia media de 27,8 mm. Para el caso de la cosecha con plataforma tipo Argento se observó una distribución de frecuencia similar a la mencionada con el 44 y 56% de los fardos con 24,5 mm y 27,8 mm respectivamente (tabla 4). En el ensayo del tercer año la cosecha tipo picker presentó un elevado nivel de pérdida de cosecha lo que mejoró la calidad del algodón recolectado (datos no mostrados).

Analizando en conjunto el intervalo de clase correspondiente a la mayor frecuencia para los parámetros que determinan la calidad tecnológica de la fibra en las tres primeras campañas se puede observar que el primer y segundo año de ensayos solo hubo cambios en la variable color (Rd) no observándose variaciones en los otros parámetros analizados. En el tercer año de experimentación se observó que el sistema de cosecha tipo Javiyú produjo un incremento de la frecuencia de clase de 24,5 mm de longitud al igual que una reducción en la uniformidad y color (reflectancia);

Variable	Clase	LI	LS	MC	Picker	Javiyú	Argento	Aurus	Wouchuk	Frecuencia relativa	
MIC	1	3,4	3,93	3,66	0	0,03	0,93	0,06	0,03		
	2	3,93	4,45	4,19	0,53	0,93	0,03	0,94	0,97	ns	**
	3	4,45	4,98	4,71	0,47	0,03	0	0	0	***	*
	4	4,98	5,5	5,24	0	0	0,03	0	0		
LENG	1	19,5	22,63	21,06	0	0	0	0	0		
	2	22,63	25,75	24,19	0	0	0,03	0	0	ns	ns
	3	25,75	28,88	27,31	0,88	0,93	0,87	0,94	0,8	ns	ns
	4	28,88	32	30,44	0,12	0,07	0,1	0,06	0,2		
UNF	1	74	76,75	75,38	0	0	0,03	0	0		
	2	76,75	79,5	78,13	0,06	0,1	0,03	0	0,14	ns	ns
	3	79,5	82,25	80,88	0,53	0,63	0,53	0,74	0,74	ns	ns
	4	82,25	85	83,63	0,41	0,27	0,4	0,26	0,11		
STR	1	23	27,75	25,38	0	0	0	0	0		
	2	27,75	32,5	30,13	0	0,03	0,03	0,03	0,06	ns	**
	3	32,5	37,25	34,88	0,71	0,53	0,8	0,81	0,66	ns	**
	4	37,25	42	39,63	0,29	0,43	0,17	0,16	0,29		
Rd	1	70	72,5	71,25	0	0,1	0	0,03	0		
	2	72,5	75	73,75	0,12	0,33	0,3	0,74	0,34	ns	ns
	3	75	77,5	76,25	0,71	0,57	0,7	0,23	0,66	ns	ns
	4	77,5	80	78,75	0,18	0	0	0	0		
+b	1	5	6,15	5,58	5	0	0	0	0		
	2	6,15	7,3	6,73	6,15	0,18	0,03	0,1	0	ns	ns
	3	7,3	8,45	7,88	7,3	0,82	0,73	0,9	0,42	ns	ns
	4	8,45	9,6	9,03	8,45	0	0,23	0	0,58		

Tabla 3. Parámetros de calidad de fibra obtenidos por análisis de HVI analizados a través de sus frecuencias relativas para distintos sistemas de cosecha de algodón realizados en la Campaña 2011-2012.

estos dos parámetros también fueron afectados por el sistema Argento (tabla 5).

Durante las campañas 2016 y 2017 las frecuencias obtenidas para los dos sistemas de recolección stripper no mostraron grandes diferencias entre los sistemas ensayados y el valor de mayor frecuencia siempre coincidió para la misma marca de clase. La media de clase correspondiente a los valores de mayor frecuencia con los cual podríamos caracterizar las muestras de fibra obtenidas en las campañas 2016 y 2017 cosechadas cosecha stripper fue: micronaire de 4,5, longitud 27,8 mm uniformidad 80,8% y resistencia 27,5 g*tec (tabla 6).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Para el primer año de experimentación la variable que más modificó su distribución fue la relacionada con el color (reflectancia Rd), mostrando una disminución del brillo de las fibras obtenidas a partir de la cosecha stripper, hecho

que se manifestó en menor medida en el segundo año y volvió a ser importante en el tercer año de ensayo. Estos cambios en el color y su asociación al sistema de cosecha fueron observados anteriormente por Boman *et al.* (2011) y se debería a la colecta de cápsulas inmaduras y de deficiente apertura que mancharían las fibras.

La uniformidad de la longitud fue una de las variables que estaría afectada por el sistema de cosecha stripper ya que mostró variaciones entre los sistemas en el primer y tercer año de ensayo. El menor grado de uniformidad en las fibras provenientes de la cosecha stripper se podría deber al corte de fibra en los procesos de limpieza, como así también a la recolección de cápsulas que maduraron tardíamente en la estación de crecimiento y aportarían a la muestra una proporción de fibras de menor longitud.

La disminución en la longitud de la fibra observada a través del aumento en la frecuencia de los fardos con inferior intervalo de clase que se produjo en el tercer año de ensayo, posiblemente se deba a la cosecha de todos los ca-

Variable	Clase	Límite Inferior	Límite Superior	Marca de clase	Picker			Javiyú			Stripper		
					FR			FR			FR		
MIC	1	3,40	3,83	3,61	0,00			0,00			0,00		
	2	3,83	4,25	4,04	0,03	***		0,86	***		0,81	*	
	3	4,25	4,68	4,46	0,98			0,14			0,19		
	4	4,68	5,10	4,89	0,00			0,00			0,00		
LEN	1	19,50	22,83	21,16	0,03			0,00			0,00		
	2	22,83	26,15	24,49	0,03	***		0,59	ns		0,44	ns	
	3	26,15	29,48	27,81	0,95			0,41			0,56		
	4	28,48	32,80	31,14	0,00			0,00			0,00		
UNF	1	74,00	76,75	75,38	0,03			0,18			0,00		
	2	76,75	79,50	78,13	0,10	*		0,41	ns		0,56	ns	
	3	79,50	82,25	80,88	0,55			0,36			0,44		
	4	82,25	85,00	83,63	0,33			0,05			0,00		
STR	1	23,0	26,0	24,5	0,00			0,32			0,25		
	2	26,0	29,00	27,5	0,78			0,68	ns		0,75	ns	
	3	29,00	32,50	30,5	0,23	ns		0,00			0,00		
	4	32,50	35,00	33,5	0,00			0,00			0,00		
Rd	1	70	72,5	71,25	0,03			0,05			0,25		
	2	72,5	75	73,75	0,45	*		0,77	ns		0,75	ns	
	3	75	77,5	76,25	0,53			0,18			0		
	4	77,5	80	78,75	0			0			0		
+b	1	5	6,15	5,58	0			0			0		
	2	6,15	7,3	6,73	0,08			0,14	ns		0,06	ns	
	3	7,3	8,45	7,88	0,9	ns		0,86			0,88		
	4	8,45	9,6	9,03	0,03			0			0,06		

Tabla 4. Parámetros de calidad de fibra obtenidos por análisis de HVI analizados a través de sus frecuencias relativas para distintos sistemas de cosecha de algodón realizados en la Campaña 2012-2013. *Valor de P significativo no hay distribución normal (Shapiro-Wilk alfa = 0,05%).

Sist. Cosecha	2011						2012						2013					
	MIC	LEN	UNF	STR	Rd	+b	MIC	LEN	UNF	STR	Rd	+b	MIC	LEN	UNF	STR	Rd	+b
Picker	4,0	27,8	80,8	30,5	76,2	6,1	4,1	27,3	80,8	34,8	76,2	9,0	4,4	27,8	80,8	27,5	76,2	7,8
Javiyú	4,0	27,8	80,8	30,5	73,7	6,8	4,1	27,3	80,8	34,8	76,2	7,8	4,0	24,5	78,1	27,5	73,7	7,8
Aurus auto	4,0	27,8	80,8	30,5	73,7	6,8	4,1	27,3	80,8	34,8	73,7	7,8	--	--	--	--	--	--
Aurus arrastre	4,0	27,8	80,8	27,5	73,7	6,8	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Wouchuk	4,0	27,8	80,8	30,5	76,2	6,1	4,1	27,3	80,8	34,8	76,2	9,0	--	--	--	--	--	--
Argento	--	--	--	--	--	--	3,6	27,3	80,8	34,8	76,2	7,8	4,0	27,8	78,1	27,5	73,7	7,8

Tabla 5. Intervalo medio de la clase correspondiente a la mayor frecuencia para los parámetros de calidad evaluados por instrumento de alto volumen (HVI). *Rango de premio.

pullos en los sistemas stripper, a diferencia de la cosecha tipo picker que para esta campaña produjo un alto grado de selección de capullos como consecuencia de una elevada pérdida de cosecha lo que produjo una mejora

relativa del algodón cosechado observado a través una fracción de alrededor del 10% de los fardos con longitud media de 29 mm, no presente en los fardos obtenidos con el sistema stripper.

Variable	Clase	Límite Inferior	Límite Superior	Marca de clase	Campaña 2015-2016		Campaña 2016-2017
					Wouchuk	Javiyú	Javiyú
					FR	FR	FR
MIC	1	3,4	3,83	3,61	0,05	0,00	0,02
	2	3,83	4,25	4,04	0,35	0,37	0,00
	3	4,25	4,68	4,46	0,55	0,63	0,96
	4	4,68	5,1	4,89	0,05	0,00	0,02
LEN	1	19,5	22,83	21,16	0,00	0	0,00
	2	22,83	26,15	24,49	0,10	0,05	0,00
	3	26,15	29,48	27,81	0,90	0,95	0,73
	4	28,48	32,8	31,14	0,00	0	0,27
UNF	1	74	76,75	75,38	0	0,05	0,00
	2	76,75	79,5	78,13	0,2	0,26	0,17
	3	79,5	82,25	80,88	0,55	0,42	0,58
	4	82,25	85	83,63	0,25	0,26	0,25
STR	1	23	26	24,5	0,35	0,16	0,02
	2	26	29	27,5	0,65	0,79	0,94
	3	29	32,5	30,5	0	0,05	0,04
	4	32,5	35	33,5	0	0	0,00

Tabla 6. Parámetros de calidad de fibra obtenidos por análisis de HVI analizados a través de sus frecuencias relativas para distintos años y sistemas de cosecha tipo stripper.

En el caso de la resistencia de la fibra obtenida de cada sistema de cosecha mostró cambios solo en un sistema de cosecha y en el segundo año de evaluación aunque sí se pueden observar mayor variaciones en los sistemas stripper respecto del sistema picker. Esta mayor variabilidad reflejada en fracciones de diferentes marcas de clase que componen las muestras analizadas se dio en general en los sistemas stripper y en todos los parámetros tecnológicos de calidad de fibra analizados. Dichos incrementos en la variabilidad de los parámetros se debería a una suma de factores que en parte estarían relacionados con el sistema de cosecha (plataforma y limpiadores) y al manejo del cultivo (Faircloth *et al.*, 2004).

Al igual que los reportado en este trabajo, Boman *et al.* (2011) analizaron las características de las fibras obtenidas de las cosechas tipo picker y stripper para los algodones producidos en las planicies de riego en Texas, no encontraron diferencias en las parámetros de calidad como longitud, resistencia, micronaire, pero sí algunas variaciones en los parámetros que tienen que ver con el color como amarillez y reflectancia.

Los valores de media de clase de los parámetros analizados en lotes comerciales (4.º y 5.º año de ensayo) recolectados con cosecha tipo stripper permitió obtener fibra con características adecuadas para una buena comercialización según los estándares (USDA 1999). Los parámetros

de calidad en los dos últimos años de ensayos permitieron obtener fibra de longitud de 27,8 mm, micronaire óptimo; uniformidad intermedia y resistencia media lo que posibilita una buena utilidad hilandera (USDA 1999).

El análisis de la distribución de frecuencias de los parámetros más significativos que determinan la calidad de la fibra de algodón es una forma de estudio novedosa que permitieron detectar mínimos cambios en las distribuciones los que en general no modificaron el intervalo de clase con mayor frecuencia, y no implicaría cambios en la calidad tecnológica de la fibra cosechada con distintos sistemas de cosecha stripper en relación con la cosecha picker. Los cambios en la distribución fueron mayores cuando el ensayo se realizó en condiciones de secano debido a un menor control de la fructificación del cultivo por lo que pone de relevancia el manejo del cultivo en los sistemas que se cosecharan con sistemas stripper. Si bien estos sistemas de recolección son más económicos, sencillos en su funcionamiento deberían ser utilizados bajo óptimas condiciones de funcionamiento y en cultivos preparados para este tipo de cosecha.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los ingenieros Walter Reichert, y Jorge Codutti, de la Empresa UNITEC AGRO S.A. "Establecimiento Don Panos" quienes posibilitaron la realización

de los ensayos en las dos primeras campañas. Al Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, que por intermedio del Programa de Asistencia para el Mejoramiento de la Calidad de la Fibra de Algodón (PROCALGODON), convenio MAGyP – INTA y el Programa nacional de Cultivos Industriales del INTA quienes financiaron el estudio. Al personal de apoyo técnico de la Estación Experimental Agropecuaria de INTA Las Breñas quienes colaboraron en la toma de datos, procesamiento de estos y sistematización para su posterior análisis. Además, se quiere agradecer al ingeniero agrónomo Jorge Gabriel Paz del Laboratorio de calidad de Fibra de la EEA INTA Sáenz Peña por la lectura crítica del manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

- BELA, D.; VILLALBA, B. 2011. Parque de cosechadoras, moduladoras y transporte de algodón en Argentina. Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca. 34 p.
- BOMAN, R.K.; WANJURA, J.D.; KELLEY, M.S.; ASHBROOK, C.; HEQUET, E.F. 2011. Picker vs. stripper harvesting in the Texas High Plains: Agronomic implications. Beltwide Cotton Conferences, January 4-7, Atlanta, Georgia 507-509.
- BRADOW, J.M.; DAVIDONIS, G.H. 2000. Quantitation of fiber quality and the cotton production-processing interface: a physiologist's perspective. *Journal of Cotton Science*. 4:34-64.
- DEERE, J. 2018. Visible body: CP690 Cotton Picker. Estados Unidos. (Disponible: www.deere.com/en_US/products/equipment/cotton_harvesting/cp690_cotton_picker/cp690_cotton_picker.page verificado: 12 de noviembre de 2017).
- DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. InfoStat versión 2010. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- FAIRCLOTH, J.C.; HUTCHINSON, R.; BARNETT, J.; PAXSON, K.; COCO, A.; PRICE, P. 2004. An Evaluation of Alternative Cotton Harvesting Methods in Northeast Louisiana –A Comparison of the Brush Stripper and Spindle Harvester. *The Journal of Cotton Science* 8:55-61.
- HUGHS, SE.; PARNELL, J.Y.; WAKELYN P, J. 2010. Cotton harvesting and ginning in the 21st. En: WAKELYN, P.; CHAUDHRY, R. (Ed.). *Cotton: technology for the 21st century*. 227-250.
- KORYTKO, A. 2016. Cosecha picker vs. Cosecha stripper. Cámara Algodonera Argentina. (Disponible: www.camaraalgodonera.com.ar verificado: 08 de julio de 2017).
- MONTENEGRO, A.; ROYO, O.; FERNANDEZ, A. 2007. Fiber Quality, Gin and Harvest Efficiency Evaluations of a New Stripper Shaker System Compared to the Picker System. *World Cotton Research Conference*. Vol. 3: 247-252.
- USDA. 1999. La clasificación del Algodón. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Servicio de Comercialización Agrícola, 23 p.
- WANJURA, J.D.; FAULKNER, W.B.; BOMAN, R.K.; KELLEY, M.S.; BARNES, E.M.; SEARCY, S.W.; WILLCUTT, H.M.; BUSCHERMOHLE, M.J.; BRASHEARS, A.D. 2010. Stripper Harvesting. (Disponible: <http://cotton.tamu.edu/Harvest/Cotton%20Stripping%20Harvest%20PDF%20.pdf> verificado: 05 de septiembre de 2017).
- WILLCUTT, M.H.; BUSCHERMOHLE, M.J.; HUITINK, G.W.; BARNES, E.M.; WANJURA, J.D.; SEARCY, S.W. 2010. The Spindle-Type Cotton Harvester. (Disponible: <http://cotton.tamu.edu/Harvest/Spindle%20Picking.pdf> verificado: 03 de octubre de 2017).

Aplicación de compost de cama profunda porcina: calidad de suelo y producción de soja (*Glycine max L.*)

PEGORARO, V.R.¹; BOCCOLINI, M.F.¹; BAIGORRIA, T.¹; RIZZO, P.²; LORENZON, C.¹; CAZORLA, C.R.¹.

RESUMEN

La aplicación de compost mejora la fertilidad del suelo y el crecimiento de los cultivos, sin embargo, es aún escasa la información sobre la aplicación de compost de cama profunda porcina (CPP) en soja. El objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de la aplicación de CPP sobre propiedades de un suelo Argiudol Típico y producción de un cultivo de soja. Se utilizó un diseño completo aleatorizado con dos tratamientos y tres repeticiones: aplicación de compost de CPP (14 t ha⁻¹-154 kg N ha⁻¹) comparado con un testigo sin aplicación. La aplicación de compost provocó incrementos en la materia orgánica particulada (MOP), carbono de la biomasa microbiana (CBM) ($p < 0,10$), nitrógeno anaeróbico (Nan) y conductividad eléctrica ($p < 0,05$). El contenido de nitrógeno de nitrato (N-NO₃⁻) se incrementó levemente a la siembra solo en la profundidad de 60-100 cm ($p < 0,10$), mientras que al momento de la cosecha fue a la profundidad de 100-150 cm ($p < 0,05$). Sin embargo, la cantidad total de N-NO₃⁻ en el perfil del suelo no mostró diferencias significativas en ambos momentos. El rendimiento de soja se incrementó un 17% ($p < 0,10$) con la aplicación de compost, mientras que el contenido de proteína y aceite no fueron modificados. El mayor rendimiento de soja pudo estar relacionado con los cambios provocados sobre la MOP e indicadores microbiológicos, como CBM y Nan, indicando mayor calidad del suelo durante la estación de crecimiento del cultivo.

Palabras clave: enmienda orgánica, materia orgánica particulada, nitrógeno anaeróbico, carbono de la biomasa microbiana.

ABSTRACT

Compost application enhances soil fertility and crop growth, however, little information is available of composted pig bedding litter application on soybean. The aim of this study was to assess the impact of composted pig bedding litter application on the soil properties of a Typic Argiudoll and soybean crop production. The trial consisted on a randomized complete design with two treatments and three replications: application of composted pig bedding litter (14 tn ha⁻¹-154 kg N ha⁻¹) and control without application. Compost application increases particulate organic matter (POM) ($p < 0.10$), microbial biomass carbon (MBC), anaerobic nitrogen (AN) and electrical conductivity ($p < 0.05$). The N-nitrate (NO₃-N) contents were higher with compost application in 60-100 cm ($p < 0.10$) depth at sowing, and in 100-150 cm ($p < 0.05$) at harvesting. However, the total amount

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Marcos Juárez, Área Suelos, Producción y Protección Vegetal, Grupo Gestión Ambiental. Ruta 12 km 3 (2580), Marcos Juárez, Córdoba, Argentina. Correo electrónico: pegoraro.vanesa@inta.gov.ar

²Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA), Instituto de Microbiología Agrícola y Zoología (IMyZA), Nicolás Repetto y De los Reseros, s/n (1686), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.

of soil $\text{NO}_3\text{-N}$ in the profile (0-150 cm) not showed significant differences. Grain yield with compost application was 17% higher than control ($p < 0.10$), while grain protein and oil was not modified. The increases in POM and microbiological parameters, as MBC and AN, could indicate greater soil quality during the growing season and could be one of the reasons for the higher soybean yield.

Keywords: organic amendment, particulate organic matter, anaerobic nitrogen, microbial biomass carbon.

INTRODUCCIÓN

El sistema de cama profunda (CP) es una alternativa para la producción porcina (*Sus scrofa domesticus*) a pequeña escala. Contribuye al incremento de la producción de carne de cerdo en países en desarrollo con un mínimo impacto ambiental (Wastell *et al.*, 2001; Cruz *et al.*, 2012). Este sería el caso de Argentina, donde el 96% de los establecimientos porcinos están conformados por pequeños productores (hasta 50 cerdas) (Ministerio de Hacienda y Finanzas Públicas, 2016), que en general presentan bajo grado de tecnificación y realizan su producción al aire libre. Este sistema consiste en que la producción de cerdos se desarrolle en instalaciones donde el piso de concreto sólido es sustituido por piso de tierra con una cama de 50-60 cm de profundidad de material vegetal seco. Las camas pueden ser de rastrojo de trigo (*Triticum aestivum*), rastrojo de maíz (*Zea mays*), cáscara de arroz (*Oryza sativa*), cáscara de maní (*Arachis hypogaea*), virutas de madera, o una mezcla de varios de estos materiales bien deshidratados, entre otros (ACPA, 2007; Giacomini y Aita, 2008; Cruz *et al.*, 2012).

Con la utilización de esta tecnología las deyecciones animales sufren un proceso de degradación aeróbica *in situ*, similar a las primeras etapas del compostaje, y reducen los riesgos de contaminación (Campiño-Espinosa y Ocampo Durán, 2007). El compostaje es un proceso biooxidativo que involucra un sustrato orgánico heterogéneo, una etapa termofílica de reducción de patógenos y semillas de malezas, y una etapa de maduración de degradación de sustancias fitotóxicas, que finaliza en un producto estable, inocuo e "inodoro" (Haug, 1993; Mazzarino *et al.*, 2012).

En comparación con los sistemas de confinamiento tradicionales, el sistema de CP tiene la ventaja de reducir el 50% el volumen del estiércol de los animales, aumentar la materia seca (MS) y concentrar los nutrientes (Neto y De Paula Mello, 2010). Sin embargo, durante la degradación *in situ* es difícil lograr la estabilización del material orgánico debido a la adición diaria de estiércol fresco y cama de sustitución (Tumelero, 1998). Por tal motivo, se recomienda continuar el proceso degradativo mediante el proceso de compostaje fuera de las instalaciones, previo a las aplicaciones sobre la superficie agrícola (Tiquia *et al.*, 2000). De esta forma, se obtiene un compost o abono orgánico de excelente calidad para su uso en agricultura, pudiendo reducir los costos de fertilizantes y mejorar la calidad del suelo (Imbeah, 1998).

La disminución en la calidad del suelo y el ambiente han contribuido al interés en el reciclaje de materiales orgánicos en zonas agrícolas (Comin *et al.*, 2013). Estos compost son fuentes concentradas de carbono orgánico (CO) y nutrientes (Tiquia *et al.*, 2000; McAndrews *et al.*, 2006), por lo que puede incrementar la fertilidad del suelo. Diversos autores han reportado incrementos en el CO del suelo (COS) en el horizonte superficial (Armstrong *et al.*, 2007a; Brunetto *et al.*, 2012; Comin *et al.*, 2013; Morales *et al.*, 2016). También, pueden modificar la actividad biológica (Morales *et al.*, 2016), mejorar los contenidos de nutrientes, las propiedades físicas (Armstrong *et al.*, 2007a) y la producción de diferentes cultivos (Loecke *et al.*, 2004; Armstrong *et al.*, 2007b; Giacomini y Aita, 2008). Sin embargo, estos cambios están relacionados con la composición del compost, la frecuencia y la cantidad de aplicación.

Generalmente las aplicaciones de estiércoles y compost se realizan sobre gramíneas, principalmente maíz. Sin embargo, esto puede implicar un riesgo de sobreaplicación y contaminación de los recursos naturales. Una solución podría ser seleccionar cultivos alternativos, como por ejemplo el cultivo de soja (*Glycine max L.*), el cual ocupa la mayor área de siembra a nivel nacional. Aunque el estiércol porcino no se ha aplicado tradicionalmente sobre este cultivo, existe la posibilidad de una respuesta agronómica favorable (Schmidt *et al.*, 2000). Sin embargo, es escasa la información sobre esta práctica. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de la aplicación de compost de CP porcina sobre propiedades de un suelo Argiudol típico y producción de un cultivo de soja.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental y manejo del ensayo

El experimento se llevó a cabo en la Estación Experimental INTA Marcos Juárez ($32^{\circ}42'44.65''\text{S}$, $62^{\circ}05'46.07''\text{O}$). Corresponde a un suelo Argiudol típico perteneciente a la serie Marcos Juárez con capacidad de uso Clase I. Esta serie presenta un horizonte A (0-19 cm de profundidad) con características propias de un suelo franco-limoso (25% arcilla, 69% limo y 5,4% arena fina). El contenido de materia orgánica (MO) en este horizonte es de 3,26%, el contenido de N total es de 0,18% y el pH es de 6,4. El suelo donde se realizó el experimento presentó historial agrícola, sin historial de aplicaciones de estiércoles pecuarios. La temperatu-

ra media anual es de 16,9 °C y las precipitaciones medias anuales son de 894 mm (INTA, 1978).

Se utilizó un diseño completo aleatorizado con tres repeticiones. Cada unidad experimental presentó un tamaño de 600 m² (15 x 40 m). Los tratamientos evaluados fueron: aplicación de compost de CP porcina comparado con un testigo sin aplicación. Se aplicaron 14 t ha⁻¹ de compost utilizando un carro esparcidor de sólidos, un mes previo a la siembra del cultivo de soja. El compost utilizado provino de la Unidad Demostrativa Porcina de la EEA INTA Marcos Juárez. Este fue retirado de las instalaciones de crianza entre 10 a 12 meses previos a las aplicaciones, y apilado para continuar con el proceso de compostaje. El material resultante estaba descompuesto y homogéneo en tamaño de partícula.

En noviembre de 2013 fue sembrado el cultivo de soja a una densidad de siembra de 20 plantas m² y a una distancia entre surcos de 42 cm. Se cosechó en el mes de abril de 2014 mediante una cosechadora experimental de 3 surcos. El rendimiento del grano (kg ha⁻¹) se determinó por la cosecha de 25 m², y la humedad del grano afectó un 13,5%. Proteína (%) y aceites (%) se determinaron por espectrometría de infrarrojo cercano (NIR).

Muestreo y determinaciones del compost

Se recolectaron muestras compuestas de compost (constituidas por 5 submuestras) previo a la aplicación. Posteriormente se homogenizaron para obtener una alícuota representativa de 1 kg. Las muestras fueron almacenadas en bolsas de polietileno y transportadas inmediatamente al laboratorio. Parámetros sugeridos por el test "Methods for the Examination of Composting and Compost" (USDA/USCC, 2001) fueron analizados como: contenido de humedad y materia seca (MS%) (105 °C por 24 h), pH y conductividad eléctrica (CE) (1:5 muestra: agua) por método potenciométrico y conductimetría, CO y MO total por calcinación (550 °C por 5 h), N total (NT) por digestión con ácido sulfúrico seguido por destilación semi-micro Kjeldahl, relación C/N en función de la concentración de CO y NT, y P total (PT) por espectrofotometría visible previa digestión ácida. La actividad biológica se midió mediante el índice respirométrico estático (IRE) (Iannotti *et al.*, 1993; USDA/USCC, 2001). Esta técnica es un método de evaluación de la estabilidad de la respiración estática que se realiza en temperaturas mesófilas (37 °C) con matraces sellados de 500 ml. Se coloca un electrodo electroquímico para la medición de oxígeno disuelto (O₂) en el espacio aéreo del matraz y se registran las concentraciones de O₂ en el matraz. La tasa de consumo de oxígeno (OUR) se expresa finalmente en mg de O₂ g⁻¹ MO h⁻¹ y se calcula mediante la pendiente de la caída de concentración de O₂. El IRE es la tasa de consumo de O₂ máximo promedio, calculada durante un período de 24 horas (luego del inicio de la incubación de la muestra de compost).

Muestreo y determinaciones de suelo

Para evaluar el impacto sobre indicadores de calidad de suelo se determinaron parámetros químicos y microbiológicos.

A la siembra y a la cosecha del cultivo de soja se sacaron muestras compuestas de suelo con un barreno de 2,5 cm de diámetro a las profundidades de 0-20, 20-40, 40-60, 60-100 y 100-150 cm para determinar N de nitratos (N-NO₃⁻) según la metodología de fenol-disulfónico (Bremner, 1965). A la siembra, además, se determinaron variables químicas y microbiológicas de suelo en la profundidad 0-20 cm. Las muestras de la profundidad 0-20 cm estuvieron compuestas por 10 submuestras, mientras que en la profundidad de 20 a 150 cm estuvieron compuestas por 5 submuestras. Todas las muestras fueron transportadas al laboratorio, secadas a temperatura ambiente, procesadas a mano y luego tamizadas hasta un tamaño menor a 2 mm. Luego una fracción de las muestras secas (2 mm) se tamizó nuevamente hasta alcanzar un tamaño menor a 0,5 mm para las determinaciones de carbono orgánico del suelo (COS) y N orgánico del suelo (NOS).

COS se determinó a partir del CO oxidable por mezcla oxidante fuerte a escala semimicro (IRAM 29571-2, 2011), NOS por el método semimicro Kjeldahl modificado (IRAM 29572-2, 2011), Pe según la metodología de Bray y Krutz N.º 1 modificado (IRAM-SAGyP 29570-1, 2010), pH por método potenciométrico en una suspensión suelo-agua de 1:2,5 (IRAM 29410, 1999) y CE por método conductimétrico en una suspensión suelo-agua de 1:2,5 (Rhoades, 1996). La MO particulada (MOP) mediante fraccionamiento por tamaño de partícula (106 µm) (Cambardella y Elliott, 1993), N anaeróbico (Nan) según la metodología de incubación anaeróbica (Echeverría *et al.*, 2000) y carbono de la biomasa microbiana (CBM) por la metodología de fumigación-extracción (Vance *et al.*, 1987).

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el Software Infostat Professional (Di Rienzo *et al.*, 2017). Se aplicó un modelo lineal mixto homocedástico, tomando como efecto fijo los tratamientos y como efecto aleatorio las repeticiones de campo. Cuando las varianzas no cumplieron el supuesto de homogeneidad se aplicaron modelos heterocedásticos. Debido a que los atributos del suelo difieren con la profundidad, esta no fue incluida en el modelo estadístico para el análisis de los datos de N-NO₃⁻; analizándose cada profundidad de manera individual. Cuando existieron diferencias significativas en las variables medidas se realizó la prueba de comparación de medias mediante LSD Fisher con significancias del 10%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características del compost de cama profunda porcina

La composición fisicoquímica y microbiológica del compost de CP se presenta en la tabla 1. Este compost presentó contenidos nutricionales similares a los reportados por otros autores para compost de origen porcino (McAndrews *et al.*, 2006; Campos *et al.*, 2012; Morales *et al.*, 2016). Los contenidos de humedad, MS, MO y NT fueron adecuados a los valores recomendados (BOE, 2013; Se-

nasa, 2011). Mientras que, el PT fue inferior, y la CE fue superior al límite admisible según la normativa argentina (Senasa, 2011). En cuanto a parámetros de estabilidad/madurez, como la relación C:N e IRE, presentaron valores levemente superiores a los recomendados (Barrena *et al.*, 2005; BOE, 2013) (tabla 1). Estos resultados podrían indicar que el compost utilizado no se encontraba totalmente estabilizado. Diversos autores consideran que la relación C:N de 20 refleja un indicador de estabilidad. Sin embargo, este indicador es afectado por el material original, como en el caso de los estiércoles, con valores muy inferiores a 20 en el material crudo y que aumenta durante el proceso de compostaje (Mazzarino *et al.*, 2012). Por lo tanto, no se recomienda evaluar este parámetro por sí solo. El IRE, en cambio, determina la actividad microbiana mediante el consumo de O_2 , lo que lo hace un indicador más confiable para la predecir la actividad microbiana de un compost.

A través de la caracterización del compost se pudo determinar la cantidad de nutrientes aportados con la dosis empleada. Con 14 t ha^{-1} se realizó un aporte de $9800 \text{ kg ha}^{-1} \text{ MS}$, $5880 \text{ kg ha}^{-1} \text{ MO}$, $3220 \text{ kg ha}^{-1} \text{ CO}$, $154 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$ y $70 \text{ kg ha}^{-1} \text{ P}$ (tabla 1). La cantidad aplicada en este ensayo podría ser considerada como una dosis media en relación con lo reportado por otros autores. Similares cantidades fueron utilizadas por Morales *et al.* (2016) quienes realizaron aplicaciones de compost con aportes de N entre 104 y 209 kg N ha^{-1} . A su vez, otros autores han aplicado CP cruda y/o compostada sobre otros cultivos, principalmente gramíneas, en dosis que variaron desde las 5 a 40 t ha^{-1} . Con estas dosis, dichos experimentos presentaron altas variaciones en el N (70 a 560 kg N ha^{-1}) y C (935 a $8000 \text{ kg C ha}^{-1}$) aportado (Liebman *et al.*, 2004; Armstrong *et al.*, 2007a; Uicab Brito *et al.*, 2009; Guardini *et al.*, 2012). Esto puede deberse principalmente a que la mayoría de los trabajos dosifican en función del contenido de N del compost, mientras que otros lo realizan en función de la cantidad de C adicionado.

Efectos sobre el suelo y cultivo de soja

El contenido de COS es un atributo clave de la calidad del suelo, debido a que tiene efectos sobre las propiedades

Variable	Unidades	Testigo	Compost
		Promedio \pm EE	Promedio \pm EE
Rendimiento de grano	kg ha^{-1}	3759 ± 210 a	4417 ± 210 b
Proteína de grano (%)	%	$35,1 \pm 0,35$	$35 \pm 0,35$
Aceite (%)	%	$23,4 \pm 0,31$	$23,37 \pm 0,31$

Tabla 1. Composición fisicoquímica del compost de cama profunda porcina.

C/N: relación carbono: nitrógeno; N: nitrógeno; pH: potencial hidrogeno; CE: conductividad eléctrica; IRE: índice respirométrico estático.

físicas, químicas y biológicas (Haynes, 2005). La aplicación de compost mantuvo las reservas de COS y NOS, y se observó una leve tendencia a incrementarse, pero sin diferencias estadísticas ($p > 0,10$) (tabla 2). Armstrong *et al.* (2007a) reportaron un aumento significativo en el COS y NOS con dosis de aplicaciones superiores ($20, 30$ y 40 t ha^{-1}) durante tres años sucesivos; este incremento fue proporcional a la dosis de aplicación. De igual manera, Morales *et al.* (2016) observaron mayor COS y NOS luego de nueve aplicaciones de CP. Por lo tanto, la falta de cambios en este estudio podría deberse a que el COS es muy estable a corto plazo y su variación puede observarse luego de varios años de aplicación.

Los cambios en los stocks de COS y NOS ocurren lentamente y no proporcionan información a corto plazo sobre la calidad de la MO del suelo (MOS). Por lo tanto, las reservas de MOP se pueden considerar como buenos indicadores de la calidad del suelo, ya que son mucho más sensibles a los cambios en la práctica de manejo (Haynes, 2005). La MOP consiste en restos vegetales, animales y hongos en diferente grado de descomposición, y constituye una importante fuente de nutrientes para las plantas y los microorganismos (Cambardella y Elliot, 1993; Galantini y Suñer, 2008). Esta fracción de la MOS respondió positivamente a la aplicación de compost, logrando un incremento del 32% ($p < 0,10$), probablemente debido al aporte de CO por medio del compost.

El Nan y CBM también se incrementaron significativamente con la aplicación de compost al momento de la siembra (tabla 2). El Nan aumentó un 16% ($p < 0,05$), mientras que el CBM un 25% ($p < 0,10$). Por un lado, estas respuestas pueden deberse a los incrementos en la MOP, debido a que el Nan representa una estimación del N potencialmente mineralizable proveniente principalmente de esta fracción (Echeverría *et al.*, 2000; Fabrizzi *et al.*, 2003). Por otro lado, la MOP también tiene importancia en los procesos biológicos, ya que se comporta como sustrato y centro de actividad microbiana del suelo. Actúa como precursor de otras formas de materia orgánica, como el CBM (Haynes, 2005), el cual representa alrededor del 1 al 5% del COS. Por lo tanto, el agregado de CO y NT por medio del compost modificó estos indicadores sensibles, y no las reservas totales en el primer año de aplicación. De esta forma, las mediciones a corto plazo pueden reflejar variaciones a largo plazo en la MOS, ya que dichas variables se relacionan con procesos de descomposición de la MO, síntesis de sustancias húmicas y varias etapas de los ciclos de los nutrientes (Powlson *et al.*, 1987).

La aplicación de compost no tuvo efecto sobre el Pe y pH, pero aumentó significativamente la CE del suelo ($p < 0,05$), por lo que fue una de las principales limitantes para su uso agronómico. El aumento de la CE del suelo puede ser explicado por la CE del compost, la cual es elevada debido al aporte de sales solubles que proceden de la dieta de los cerdos (Sommer y Husted, 1995; Saviozzi *et al.*, 1997). Sin embargo, los valores de la CE del suelo estaban por debajo del nivel de umbral crítico para el crecimiento de los cultivos, según Maas y Hoffman (1977).

Variable	Unidades	Testigo		Compost	
		Promedio ± EE		Promedio ± EE	
COS	g kg ⁻¹	16,36 ± 0,85		16,96 ± 0,85	
NOS	g kg ⁻¹	1,29 ± 0,06		1,35 ± 0,06	
C/N		12,69 ± 0,32		12,49 ± 0,32	
MOP *	g kg ⁻¹	5,04 ± 0,97 a		6,66 ± 0,97 b	
CBM *	mg kg ⁻¹	76,19 ± 19,05 a		95,24 ± 19,05 b	
Nan **	mg kg ⁻¹	50,52 ± 4,11 a		58,57 ± 4,11 b	
Pe	mg kg ⁻¹	67,7 ± 18,87 a		65 ± 18,87 a	
pH		5,83 ± 0,18		5,73 ± 0,18	
CE **	dS m ⁻¹	0,08 ± 0,01 a		0,12 ± 0,02 b	

Tabla 2. Variables químicas y microbiológicas de suelo al momento de la siembra.

Letras distintas indican diferencias significativas. (*) significativo al 10% (**) significativo al 5%. (Media ± EE, n=3). COS: carbono orgánico del suelo; NOS: nitrógeno orgánico del suelo; C/N: relación carbono: nitrógeno; MOP: materia orgánica particulada; CBM: carbono de la biomasa microbiana; Nan: N anaeróbico; pH: potencial hidrogeno; CE: conductividad eléctrica; N-NO₃⁻: nitrógeno de nitratos.

En cuanto la distribución de contenido de N-NO₃⁻ en el perfil del suelo, estas respondieron levemente a la aplicación de compost (figura 1 A y B). A la siembra se observó un incremento solo en la profundidad de 60-100 cm (p<0,10), mientras que al momento de la cosecha fue a la profundidad de 100-150 cm (p<0,05). Sin embargo, la cantidad total de N-NO₃⁻ en el perfil del suelo (0-150 cm) no mostró diferencias significativas en ambos momentos. A la siembra presentaron 99 y 112 kg ha⁻¹ de N-NO₃⁻ para los tratamientos testigo y compost, respectivamente. Mientras que a la cosecha fueron 70 y 77 kg ha⁻¹ N-NO₃⁻ para dichos tratamientos. En cambio, Armstrong *et al.* (2007a) informaron que el contenido de N-NO₃⁻ fue significativamente mayor en

los estratos superiores del suelo cuando se aplicó CP. Dichos autores lo atribuyen a que las aplicaciones sucesivas de compost lograron incrementos en el NOS, el cual es un reservorio del N mineral. Además, el compost utilizado en este experimento presentó una relación C:N de 21, similar al reportado por Armstrong *et al.* (2007a), lo cual pudo haber provocado una inmovilización temporal del N en el suelo. Por su parte, Schmidt *et al.* (2000) reportaron que en poscosecha los contenidos de N-NO₃⁻ dependen de la dosis de N aplicado, donde dosis de 260 kg N ha⁻¹ provocaron menos de 70 kg N ha⁻¹. Por lo tanto, el contenido de N proporcionado por la aplicación de CP no representaría un riesgo ambiental.

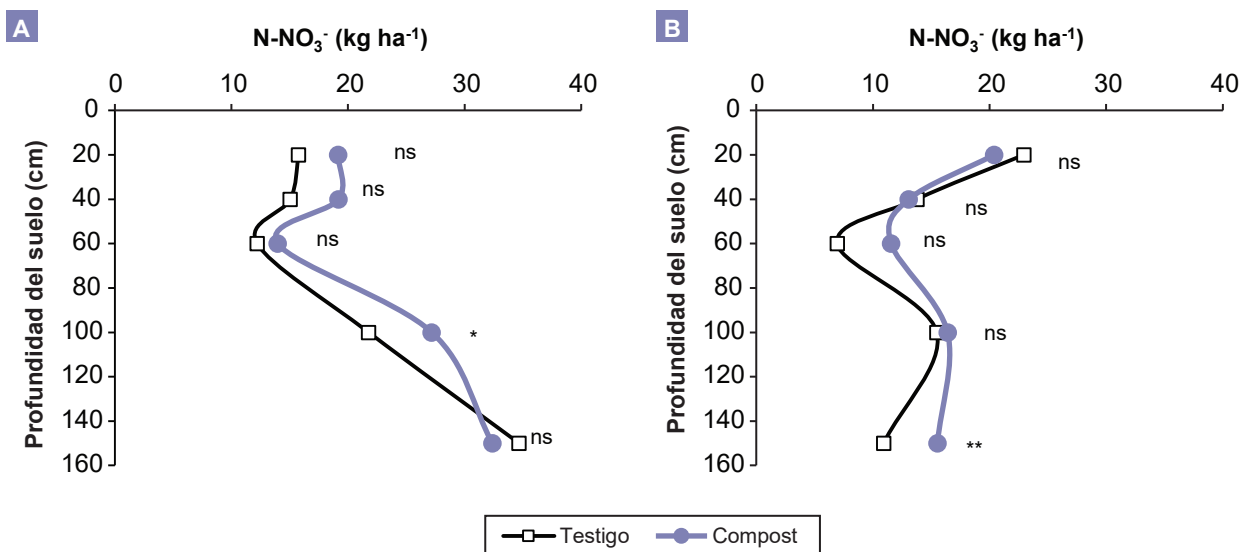


Figura 1. Distribución de nitrógeno de nitratos (N-NO₃⁻) (kg ha⁻¹) en el perfil de suelo a la siembra (A) y cosecha del cultivo de soja (B). (*) significativo al 10%, (**) significativo al 5%, (ns) no significativo.

El rendimiento de grano mostró una respuesta favorable a la aplicación de compost con respecto a T ($p < 0,10$), con un incremento del 17%. Mientras que la calidad del grano, en función del contenido de proteína y aceite no mostraron efectos del tratamiento (tabla 3). Varios estudios han informado efectos beneficiosos en la producción de diferentes cultivos. Armstrong *et al.* (2007b) reportaron importantes mejoras en la producción de MS y rendimiento de grano sobre cultivos de trigo, canola y avena. Mientras que, cuando dichos autores lo evaluaron sobre una leguminosa (arveja) no encontraron respuesta al agregado de compost de CP. A su vez, Loecke *et al.* (2004) reportaron incrementos de 17% sobre un cultivo de maíz con aplicaciones de 340 kg N ha⁻¹ por medio de la CP.

Variable	Unidades	Testigo	Compost
		Promedio ± EE	Promedio ± EE
Rendimiento de grano	kg ha ⁻¹	3759 ± 210 a	4417 ± 210 b
Proteína de grano (%)	%	35,1 ± 0,35	35 ± 0,35
Aceite (%)	%	23,4 ± 0,31	23,37 ± 0,31

Tabla 3. Rendimiento promedio del cultivo de soja y calidad de grano.

Letras distintas indican diferencias significativas al 10%. (Media ± EE, n=3).

Existen pocos antecedentes que han utilizado compost de CP sobre un cultivo de soja. Sin embargo, está reportado que este cultivo responde a las aplicaciones de estiércoles, comparándolo con fertilización mineral o soja sin fertilizar (Helmers *et al.*, 2008). Hati *et al.* (2006) evidenciaron incrementos del rendimiento de soja entre 16 y 103% cuando utilizaron estiércol de tambo combinado con rastrojo de trigo, comparado con una fertilización mineral. Ellos lo atribuyen a un mayor contenido de COS y una mayor eficiencia en el uso del agua, como así también a un incremento en la proliferación de las raíces, lo que provoca una menor resistencia mecánica, mejor aireación y menor densidad aparente del suelo. Mientras que Schmidt *et al.* (2000) reportaron aumentos en la producción de soja con diferentes dosis de aplicación de estiércol porcino, y afirmaron que el aumento de los rendimientos coincidió con sitios de bajo contenido de N en el suelo. En cambio, Barbazan (2004) observó que la aplicación de estiércol porcino provocó un crecimiento vegetativo temprano, en comparación con el agregado de fertilizante fosforado, pero no se tradujo en mayores rendimientos.

Sin embargo, Helmers (2008) resalta que no se puede lograr una conclusión clara sobre la causa de la mayor respuesta del rendimiento del cultivo de soja a las aplicaciones de estiércol porcino. La mayoría de los estudios sugieren

que esta respuesta no se debe únicamente a la provisión de N, sino que pueden estar relacionados con otros efectos residuales, como el aporte de MO y otros nutrientes, incremento en la actividad microbiana, concentraciones de sustancias que imitan los efectos reguladores del crecimiento de los cultivos, u otros factores desconocidos presentes en el estiércol.

CONCLUSIÓN

Los aumentos en MOP e indicadores microbiológicos indican que hubo mayor calidad del suelo durante la estación de crecimiento del cultivo, lo cual pudo ser una de las razones del incremento en el rendimiento de la soja. Además, se debe tener en cuenta que estos compost son enmiendas complejas que aportan diversos nutrientes, que en este trabajo no han sido cuantificados. Por tal motivo, se sugiere en investigaciones futuras evaluar el aporte de otros macro y micronutrientes.

AGRADECIMIENTOS

El estudio fue financiado por el Proyecto "Tecnologías y estrategias de gestión de residuos y efluentes en sistemas agropecuarios y agroindustriales" (PNNAT 1128042) y el Proyecto "Aprovechamiento de residuos para aumentar el reciclado en el suelo. Sumideros de carbono y emisiones" (PNSUELO 1134042) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina.

BIBLIOGRAFÍA

- ACPA. 2007. Camas profundas. Crianza porcina a pequeña y mediana escala. Revista de la Asociación Cubana de Producción Animal 4, 37-40.
- ARMSTRONG, R.; EAGLE, C.; JARWAL, S. 2007a. Application of composted pig bedding litter on a Vertosol and Sodosol soil. 2. Effect on soil chemical and physical fertility. *Animal Production Science* 47 (11), 1341-1350.
- ARMSTRONG, R.; EAGLE, C.; MATASSA, V.; JARWAL, S. 2007b. Application of composted pig bedding litter on a Vertosol and Sodosol soil. 1. Effect on crop growth and soil water. *Animal Production Science* 47 (6), 689-699.
- BARBAZAN, M. 2004. Liquid swine manure as a phosphorous source for corn-soybean rotation. Thesis Doctor of Philosophy. Iowa State University, Ames, Iowa. (Disponible: <https://lib.dr.iastate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=2143&context=rtd> verificado: 31 de enero de 2018).
- BARRENA GÓMEZ, R.; VÁZQUEZ, F.; GORDILLO, M.A.; GEA, T.; SÁNCHEZ, A. 2005. Respirometric assays at fixed and process temperatures to monitor composting process. *Bioresource Technology* 96,1153-1159.
- BOE. 2013. Boletín oficial del Estado N° 164. Real Decreto 506/2013 sobre productos fertilizantes. Boletín Oficial del Estado de España, Madrid. 171: 51119-51207.
- BREMNER, J. 1965. Inorganic forms of nitrogen. En: EVANS, D.; WHITE, J.; ENSMINGER, L.; CLARK, F. (Eds.). *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin. 1179-1237 pp.

- BRUNETTO, G.; COMIN, J.J.; SCHMITT, D.E.; GUARDINI, R.; MEZZARI, C.P.; OLIVEIRA, B.S.; PIRES DE MORAES, M.; GATIBONI, L.; LOVATO, P.E.; CERETTA, C. A. 2012. Changes in soil acidity and organic carbon in a sandy typic hapludalf after medium-term pig-slurry and deep-litter application. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 36 (5), 1620-1628.
- CAMBARDELLA, C.; ELIOTT, E. 1993. Methods for physical separation and characterization of soil organic matter fractions. *Geoderma* 56, 449-457.
- CAMPIÑO-ESPINOSA, G.P.; OCAMPO DURÁN, A. 2007. Comportamiento de la temperatura de la cama profunda de cerdos de engorde utilizando racimos vacíos de palma de aceite *Elaeis guineensis* jacq. *Orinoquia* 11 (1), 65-47.
- CAMPOS, A.; VELOSO, A.; SILVA, E.; YANAGI JUNIOR, T.; KLOSOWSKI, E. 2012. Nitrogen fertilization by deep-bedding swine production and its effects on the properties of a Quartzarenic Neosol. *Engenharia Agrícola* 32 (4), 756-764.
- COMIN, J.J.; LOSS, A.; DA VEIGA, M.; GUARDINI, R.; SCHMITT, D.E.; DE OLIVEIRA, P.A.V.; FILHO, P.B.; COUTO, R.; BENEDET, L.; VILMAR MÜLLER, J.; BRUNETTO, G. 2013. Physical properties and organic carbon content of a Typic Hapludult soil fertilised with pig slurry and pig litter in a no-tillage system. *Soil Research* 51 (5), 459-470.
- CRUZ, E.; ALMAGUEL, R.E.; ROBERT, M.; LY, J. 2012. Estudio sobre la contaminación del suelo después de tres ciclos de crianza de cerdos con el sistema de cama profunda a pequeña escala. *Tropicultura*, 30 (2), 113-116.
- DI RIENZO, J.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- ECHEVERRÍA, H.; SAN MARTIN, N.; BERGONZI, R. 2000. Métodos rápidos de estimación del nitrógeno potencialmente mineralizable en suelos. *Ciencia del Suelo* 18, 9-16.
- FABRIZZI, K.P.; MORON, A.; GARCÍA, F.O. 2003. Soil carbon and nitrogen organic fractions in degraded vs. non-degraded Mollisols in Argentina. *Soil Science Society of America Journal* 67 (6), 1831-1841.
- GALANTINI, J.A.; SUÑER, L. 2008. Las fracciones orgánicas del suelo: análisis en los suelos de la Argentina. *Agriscientia* 25 (1), 41-55.
- GIACOMINI, S.J.; AITA, C. 2008. Deep-Litter and pig slurry as nitrogen sources for corn. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 32 (1), 195-205.
- GUARDINI, R.; COMIN, J.J.; SCHMITT, D.E.; TIECHER, T.; BENDER, M.A.; DOS SANTOS, D.R.; MEZZARI, C.P.; OLIVEIRA, B.S.; GATIBONI, G.; BRUNETTO, G. 2012. Accumulation of phosphorus fractions in typic Hapludalf soil after long-term application of pig slurry and deep pig litter in a no-tillage system. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 93 (2), 215-225.
- HATI, K.M.; MANDAL, K.G.; MISRA, A.K.; GHOSH, P.K.; BANDYOPADHYAY, K.K. 2006. Effect of inorganic fertilizer and farmyard manure on soil physical properties, root distribution, and water use efficiency of soybean in Vertisols of central India. *Bioresource Technology* 97, 2182-2188.
- HAUG, R.T. 1993. *The practical handbook of compost engineering*. Lewis publishers, Boca Raton, Florida, Estados Unidos.
- HAYNES, R.J. 2005. Labile organic matter fractions as central components of the quality of agricultural soils: an overview. *Advances in Agronomy* 85, 221-268.
- HELMERS, M.J.; MOODY, L.B.; BURNS, R. 2008. Utilization of manure nutrients for soybean crop production. Technical Report, Iowa State University Extension, National Pork Board, Des Moines, Iowa. (Disponible: <https://pdfs.semanticscholar.org/799b/7d3acc9eb1451d312a7dfa38e9f98fae92ed.pdf> verificado: 31 de enero de 2018).
- Iannotti, D.A.; Pang, T.; Toth, B.L.; Elwell, D.I.; Keener, H.M.; Hoitink, H.A. 1993. A quantitative respirometric method for monitoring compost stability. *Compost Science and Utilization*. 1: 52-65.
- IMBEAH, M. 1998. Composting piggery waste: a review. *Biore-source Technology* 63 (3), 197-203.
- INTA. 1978. Carta de suelos de la República Argentina hoja 3363-17. Buenos aires. 85 p.
- IRAM. 1999. Instituto de Normalización. Norma 29410. Determinación del pH.
- IRAM. 2010. Instituto de Normalización. Norma 29570-1. Determinación de fósforo extraíble en suelos. Parte 1. Método Bray Kurtz 1 modificado (extracción con solución de fluoruro de amonio - ácido clorhídrico).
- IRAM. 2011. Instituto de Normalización Norma 29571-2. Determinación de Materia Orgánica en Suelos. Parte 2. Determinación de carbono orgánico oxidable por mezcla oxidante fuerte, escala semi-micro.
- IRAM. 2011. Instituto de Normalización. Norma 29572. Determinación de Nitrógeno por el método Kjeldahl modificado.
- LIEBMAN, M.; MENALLED, F.D.; BUHLER, D.D.; RICHARD, T.L.; SUNDBERG, D.N.; CAMBARDELLA, C.A.; KOHLER, K.A. 2004. Impacts of composted swine manure on weed and corn nutrient uptake, growth, and seed production. *Weed science* 52 (3), 365-375.
- LOECKE, T.D.; LIEBMAN, M.; CAMBARDELLA, C.A.; RICHARD, T.L. 2004. Corn growth responses to composted and fresh solid swine manures. *Crop science* 44 (1), 177-184.
- MAAS, E.; HOFFMAN, G. 1977. Crop salt tolerance-current assessment. *Journal of the irrigation and drainage division* 103 (2), 115-134.
- MAZZARINO, M.J.; SATTI, P.; ROSELLI, L. 2012. Indicadores de estabilidad, madurez y calidad de compost. En: MAZZARINO, M.J.; SATTI, P. (Eds). *Compostaje en la Argentina: Experiencias de producción, calidad y uso*. Universidad Nacional de Río Negro. 13-28 pp.
- MCANDREWS, G.M.; LIEBMAN, M.; CAMBARDELLA, C.A.; RICHARD, T.L. 2006. Residual effects of composted and fresh solid swine (L.) manure on soybean [(L.) Merr.] growth and yield. *Agronomy Journal* 98 (4), 873-882.
- MINISTERIO DE HACIENDA Y FINANZAS PÚBLICAS. 2016. *Informes de cadenas de valor: cárnica-porcina. Año 1, N.º 9. Ciudad autónoma de Buenos Aires, República Argentina*. 35 p.
- MORALES, D.; VARGAS, M.M.; OLIVEIRA, M.P.D.; TAFPE, B.L.; COMIN, J.; SOARES, C.R.; LOVATO, P. 2016. Response of soil microbiota to nine-year application of swine manure and urea. *Ciência Rural* 46 (2), 260-266.
- NETO, M.N.; DE PAULA MELLO, S. 2010. Produção de silagens de milho (*Zea mays* L.) com diferentes adubações. *Nucleus* 2 (2), 1-10.
- POWLSON, D.S.; PROOKES, P.C.; CHRISTENSEN, B.T. 1987. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biology and Biochemistry* 19(2), 159-164.
- RHOADES J. 1996. Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids. En: SPARKS, D.; PAGE, A.; HELMKE, P.; LOEPPERT, R.; SOLTANPOUR, P.; TABATABAI M.; JOHNSTON, C.; SUMNER, M. (Eds.). *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin. 417-435 pp.

- SAVIOZZI, A.; LEVI-MINZI, R.; RIFFALDI, R.; VANNI, G. 1997. Laboratory studies on the application of wheat straw and pig slurry to soil and the resulting environmental implications. *Agriculture, ecosystems & environment* 61(1): 35-43.
- SCHMIDT, J.P.; SCHMITT, M.A.; RANDALL, G.W.; LAMB, J.A.; ORF, J.H.; GOLLANY, H.T. 2000. Swine manure application to nodulating and nonnodulating soybean. *Agronomy Journal* 92 (5), 987-992.
- SENASA. 2011. Resolución 264. Manual para el registro de fertilizantes, enmiendas, sustratos, acondicionadores, protectores y materias primas en la República Argentina. (Disponible: <http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-264-2011-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria> verificado: 31 de enero de 2018).
- SOMMER, S.G.; HUSTED, S. 1995. The chemical buffer system in raw and digested animal slurry. *The Journal of Agricultural Science* 124 (1), 45-53.
- TIQUIA, S.M.; RICHARD, T.L.; HONEYMAN, M.S. 2000. Effect of windrow turning and seasonal temperatures on composting of hog manure from hoop structures. *Environmental Technology* 21 (9), 1037-1046.
- TUMELERO, I.L. 1998. Avaliação de materiais para o sistema de criação de suínos sobre cama. Dissertação (Mestrado). Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. (Disponible: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/77543> verificado: 31 de enero de 2018).
- UICAB BRITO, L.U.; YANEZ, I.A.; MALDONADO, A.C.; FRANCO, L.S.; CORREA, J.S.; RICALDE, R.S. 2009. Effect of pig litter composted on growth of maize (*Zea mays*) and havanan pepper (*Capsicum chinense*) plants. *Research Journal of Biological Sciences*, Lucknow 4 (4), 514-518.
- USDA/USCC, 2001. Test methods for the examination of composting and compost. Houston: Edaphos International, Department of Agriculture and Composting council, EUA.
- VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil biology and Biochemistry* 19 (6), 703-707.
- WASTELL, M.E.; LUBISCHER, P; PENNER, A. 2001. Deep bedding an alternative system for raising pork. *American Society of Agricultural Engineers* 17 (4), 521-526.

Conservación *ex situ* de variedades de papas nativas. Caso de estudio de la variedad 'Collareja' del noroeste de la Argentina

ATENICIO, H.M.¹; ISPIZÚA, N.V.²; FEINGOLD, S.³; CLAUSEN, A.M.^{1,2}

RESUMEN

La papa andina nativa *Solanum tuberosum* Grupo Andigenum ha sido cultivada durante milenios en los Andes del noroeste de Argentina. Las variedades nativas de papa poseen una gran diversidad de formas y colores de sus tubérculos. Una de las variedades de más amplia distribución en el NOA es la variedad 'Collareja'. En el Banco Activo de Germoplasma de la EEA Balcarce (INTA) (BAL) se conservan accesiones de 'Collareja', muestreadas en diferentes departamentos y localidades de Jujuy. En este estudio se examinó la variabilidad genética de las accesiones de la variedad 'Collareja' conservadas en el BAL y, en paralelo se evaluó morfológica y molecularmente una muestra de 'Collareja' proveniente de una parcela de un agricultor andino. La variabilidad fue examinada usando descriptores morfológicos y cuatro *Simple Sequence Repeats* (SSRs). La distribución espacial de los marcadores fenotípicos y moleculares fue calculada con técnicas estadísticas multivariadas, y se estimaron los Índice de Contenido Polimórfico (PIC) para cada SSR. Los resultados revelaron variabilidad a nivel morfológico y genómico en los tubérculos de la muestra de 'Collareja' del campo del agricultor. Las accesiones de 'Collareja' del BAL también mostraron variabilidad molecular, pero diferencial respecto a la estimada en el campo del agricultor, y con mayor polimorfismo de acuerdo a los valores PIC. Con estos resultados preliminares discutimos respecto de la variabilidad morfológica y molecular encontrada, su posible impacto sobre el muestreo del germoplasma, y las estrategias de conservación *in situ* y *ex situ* sobre las variedades andinas de papa en general y de 'Collareja' en particular.

Palabras clave: *Solanum tuberosum* Grupo Andigenum, cultivos tradicionales, conservación *in situ* y *ex situ*, microsatélites.

ABSTRACT

The native Andean potato Solanum tuberosum Group Andigenum, it has been cultivated for millennia in the Northwest Andes of Argentina. The native potato varieties have a large diversity of shapes and colors of their tubers. One of the most widely distributed varieties in the NOA is the variety Collareja. In the Active Bank of

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro Regional Buenos Aires Sur, Estación Experimental Agropecuaria (EEA), Balcarce, Banco Activo de Germoplasma, Ruta 226 km 73,5 (7620) Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

Correo electrónico: atencio.hugo@inta.gov.ar

²Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMDP), Facultad de Ciencias Agrarias (FCA), Cátedra de Botánica Agrícola. Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

³Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro Regional Buenos Aires Sur, Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Balcarce, Laboratorio de Agrobiotecnología, Ruta 226, km 73,5 (7620), Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

Recibido 01 de septiembre de 2017 // Aceptado 21 de noviembre de 2018 // Publicado online 02 de octubre de 2019

Germplasm of the EEA Balcarce - INTA (BAL) accessions of variety 'Collareja' are conserved, sampled from different departments and localities of Jujuy. In this study, the genetic variability of the accessions of the 'Collareja' variety conserved in the BAL was examined, while in parallel, a sample of 'Collareja' from an Andean farmer's field was evaluated morphologically and molecularly. The variability was examined with morphological descriptors and four Simple Sequence Repeat (SSRs). The spatial distribution of the phenotypic and molecular markers was calculated with multivariate statistical techniques, and the Polymorphic Index Content (PIC) was estimated for each SSR. The results revealed variability at the morphological and genomic level in the tubers of the 'Collareja' sample of the farmer's field. The accessions of 'Collareja' of the BAL also showed molecular variability, but differential with regard to that estimated in the farmer's field and with higher polymorphism according to the PIC values. With these preliminary results we discussed the morphological and molecular variability found, its possible impact on germplasm sampling, and ex situ and in situ conservation strategies on Andean potato varieties in general and 'Collareja' in particular.

Keywords: *Solanum tuberosum* Group Andigenum, traditional farming, in situ and ex situ conservation, microsatellites.

INTRODUCCIÓN

La papa es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial y el principal producto no cerealero para consumo humano. Las variedades de papas andinas se distribuyen desde el sur de Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia hasta el noroeste de Argentina (Hawkes, 1990). En la Argentina se cultivan principalmente en las provincias de Jujuy, Salta, Catamarca, y ocasionalmente en Tucumán (Okada, 1979; Clausen *et al.*, 2010), en los valles y quebradas andinas de la Puna y Prepuna, entre los 2300 y 4300 m de altitud (Hawkes, 1990; Clausen, 2005). Las papas andinas son una fuente importante de genes que confieren resistencia a plagas y enfermedades que afectan al cultivo de la papa. Numerosos trabajos han sido realizados para evaluar la resistencia a hongos, bacterias, virus, nemátodos, insectos y estreses ambientales (Suárez *et al.*, 2009; Pelletier *et al.*, 2011; Litmanseva *et al.*, 2014; Rodríguez *et al.*, 2016; Tordable *et al.*, 2018), además se ha evaluado la variabilidad para caracteres de interés agronómico tales como la calidad de papas fritas, alto contenido de sólidos, hierro, zinc y compuestos antioxidantes. (Monti *et al.*, 2010; Akyol *et al.*, 2016; Ayvaz *et al.*, 2016; Colman *et al.*, 2017; Valiñas *et al.*, 2017; Monte *et al.*, 2018).

Solanum tuberosum Grupo Andigenum es una papa nativa que posee una gran diversidad en las características morfológicas de las plantas, incluyendo formas y colores en tubérculos y flores (Hawkes, 1990). Una de las variedades de más amplia distribución en el NOA de la Argentina es la 'Collareja', que exhibe una alta variabilidad morfológica, bioquímica y molecular (Huarte *et al.*, 1991; Clausen, 2010). Los agricultores del NOA mantienen altos niveles de variabilidad morfológica en sus cultivos, a pesar de que estos se encuentran bajo una fuerte presión antrópica y ambiental (Clausen *et al.*, 2005).

En el Banco Activo de Germoplasma de la EEA Balcarce, INTA (BAL), se conserva *ex situ* desde hace unos 40

años una colección de variedades andinas de papas del NOA que incluye más de 400 accesiones de papas nativas, que representan más de 40 variedades diferentes y que proceden de distintos lugares de colecta. Cerca de la mitad de las accesiones conservadas en el Banco BAL son representadas por la variedad 'Collareja', con sus sinónimos 'Chorcocoyeña' y 'Churqueña', procedentes de diferentes sitios de la provincia de Jujuy.

Hasta el momento no ha sido evaluada la variabilidad genética y morfológica de las variedades de papas nativas, tanto en la región donde se distribuyen como en las parcelas de los productores individuales. En el presente trabajo proponemos explorar la diversidad presente en la variedad 'Collareja' mantenida en el Banco BAL y comparar los resultados con muestras de 'Collareja' provenientes de un productor andino, por lo que se plantean los siguientes objetivos: (1) describir la variabilidad morfológica de la variedad 'Collareja' cultivada en la parcela de un productor; (2) analizar la variabilidad molecular de 'Collareja' cultivada en el campo de un agricultor andino; (3) analizar la variabilidad molecular presente en 'Collareja' de las accesiones conservadas en el Banco BAL procedentes de la provincia de Jujuy; (4) realizar propuestas para mejorar la representatividad de la variabilidad en el Banco BAL.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Por un lado, se trabajó con material vegetal proveniente del campo de un agricultor andino, situado en la localidad de Hornillos, provincia de Jujuy. Para esto, se muestrearon al azar 24 tubérculos de la variedad 'Collareja' del campo, T1 al T24, que constituye la Muestra del productor (figura 1). Los tubérculos obtenidos a campo fueron cultivados en cámara antiáfidos, en campo experimental de la Unidad Integrada Balcarce, hasta la etapa de floración.

Por otro lado, se trabajó con material mantenido en el Banco Activo de Germoplasma. Para esto se seleccionaron 32 accesiones de 'Collareja' *in vitro*, mantenidas a 10 °C con fotoperiodo 16/8 luz/oscuridad (tabla 1). Las accesiones fueron identificadas como 'Collareja' y 'Collareja redonda', de acuerdo a si presentaron morfología oblonga o redonda, respectivamente, la que se denominará Colección de germoplasma.

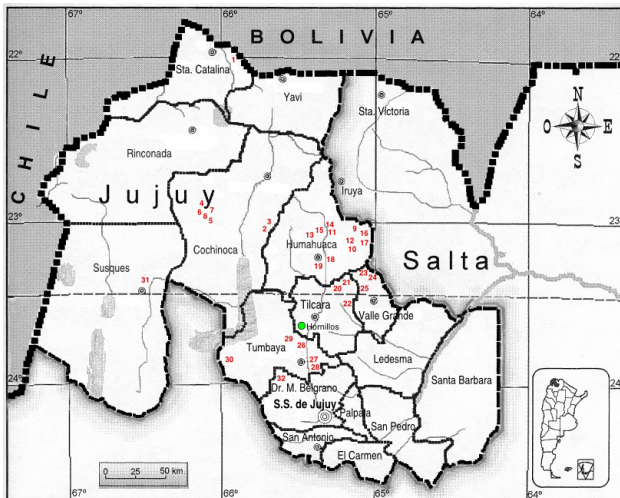


Figura 1. Procedencia de las 32 accesiones de 'Collareja' mantenidas en el BAL que son detalladas en la tabla 2 (la entrada 31 corresponde a la variedad Yaguana). El círculo verde corresponde a la Localidad de Hornillos donde se muestrearon los tubérculos de la variedad 'Collareja' del productor andino. Elaborado para la presente edición.

Extracción y amplificación de ADN

Para el aislamiento de ADN desde los materiales del productor andino, se obtuvieron hojas jóvenes de las 24 plantas cultivadas en cámara antiáfidos, en tanto el material del BAL se obtuvo a partir de hojuelas de 32 plántulas mantenidas *in vitro*. Como grupo externo se eligió la variedad 'Yaguana', variedad nativa andina con morfología y coloración diferente a 'Collareja'.

Para la extracción se empleó el método de Haymes (1996) con algunas modificaciones. La concentración de ADN fue cuantificada espectrofotométricamente a 260 nm, y la calidad inferida de la relación 260 nm/280 nm. Se seleccionaron cuatro marcadores microsatélites o *Simple Sequence Repeats* (SSRs) (Stm2005, Stm1104, Sti012 y Sti014) a partir de un kit de identidad genética para papas robustos y altamente informativos (Ghislain *et al.*, 2009). Cada reacción de amplificación contenía: 10 ng de templado de ADN, 0.25 unidades de *Taq* DNA Polymerase (Platinum® *Taq* DNA Polymerase, Invitrogen), 2.5 mM MgCl₂, 1X Buffer Polymerase, mezcla de 0.2 mM dNTPs, 0.2 uM de cada cebador (Invitrogen). Las condiciones de amplificación y de electroforesis en gel de poliacrilamida son las descriptas en Atencio (2011).

Análisis de datos morfológicos

Se registraron 62 caracteres morfológicos vegetativos y reproductivos, tanto cualitativos como cuantitativos, siguiendo la metodología propuesta por Gomez, (2000) (tabla 2). De los datos morfológicos cualitativos y cuantitativos generados, se construyó una matriz de similitud entre pares de morfotipos, cuyos coeficientes fueron transformados en distancias (Gower, 1971). La representación geométrica de los morfotipos se trazó en un gráfico cartesiano por el método de ordenación de Análisis de Coordenadas Principales (ACoorP) (programa INFOSTAT, 2005). El coeficiente de correlación cofenético (*r*) fue usado para medir el grado de distorsión entre la matriz original de datos y la distribución alcanzada con el ACoorP (Sneath y Sokal, 1973).

Análisis de datos moleculares

A partir de los datos moleculares fue construida una matriz de presencia (1) y ausencia (0). Se evaluó la similitud entre pares de genotipos, generada al aplicar el coeficiente de apareamiento simple (Sokal y Mitchener, 1958). La representación gráfica se realizó utilizando el ACoorP. Para la interpretación de la ordenación en el espacio de los datos morfológicos y moleculares se construyó un árbol de mínima distancia (AMD). Para calcular la correlación entre las matrices morfológicas versus la molecular, se aplicó el test de Mantel (*r*) (Mantel, 1967).

El Índice de Diversidad de Nei (1973) fue usado para estimar el poder discriminatorio de cada SSR, con valores que varían entre 0 y 1. Basado en las frecuencias de los patrones de los fragmentos de ADN se estimó el Coeficiente de Información Polimórfica (PIC):

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n (P_i)^2$$

donde *P_i* es la frecuencia del *i*ésimo patrón y *n* es el número de patrones observados.

RESULTADOS

Variabilidad morfológica

En el análisis conjunto de los caracteres morfológicos cuali y cuantitativos se observó la distribución espacial de los 24 morfotipos de 'Collareja' de la Muestra del productor en el ACoorP. Así, los dos ejes principales explicaron el 22,4% y el 12,7% respectivamente, de la varianza total (*r*=0,93). Los 24 morfotipos analizados fueron únicos en sus patrones morfológicos, es decir, no se encontraron pares de morfotipos con más del 75% de similitud. El patrón de distribución en el espacio del ACoorP estuvo constituido por un grupo de 20 morfotipos localizados en la intersección de los ejes a partir del valor cero de ambas coordenadas (figura 2a); la distancia promedio dentro de este grupo fue de 0,45. Los morfotipos T15, T16, T23 y T24 se localizaron alejados del grupo anterior y a una distancia promedio de aquel de 0,57, 0,72, 0,65 y 0,64 respectivamente; T23 y T24 se encontraron a una distancia de 0,36 entre ellos, menor a la encontrada entre T15 y T16 que fue de 0,66. Los morfotipos T23 y T24 se distanciaron de T15, con las máximas distancias 0,77 y

N.º Colección	Varietal	Departamento / Localidad	Lat. S / Long. O	Altura (m)
1- CCS 1304	'Collareja'	Santa Catalina / Casira	21°56' / 65°54'	3638
2- CCS 1368	'Collareja redonda'	Cochinoca / Quebraleña	23°17' / 65°46'	3618
3- CCS 1372	'Collareja redonda'	Cochinoca / Agua Castilla	23°12' / 65°48'	3524
4- CCS 1324	'Collareja redonda'	Cochinoca / Agua Caliente	22°50' / 66°04'	3561
5- CCS 1322	'Collareja'	Cochinoca / Agua Caliente	23°03' / 66°04'	3651
6- CCS 1320	'Collareja redonda'	Cochinoca / Agua Caliente	22°50' / 66°04'	3561
7- CCS 1328	'Collareja redonda'	Cochinoca / Rachaite	22°59' / 66°09'	3435
8- CCS 1331	'Collareja'	Cochinoca / Rachaite	22°59' / 66°09'	3435
9- CCS 1212	'Chorcoveña'	Humahuaca / Chorcán	23°03' / 65°12'	3855
10- CCS 1186	'Chorcoveña'	Humahuaca / Palca de Aparso	23°06' / 65°08'	3435
11- CCS 1219	'Collareja'	Humahuaca / Ocumazo	23°14' / 65°15'	3070
12- CCS 1224	'Collareja'	Humahuaca / Coctaca	23°09' / 65°16'	3226
13- CCS 1175	'Collareja'	Humahuaca / Humahuaca	23°12' / 65°21'	2952
14- CCS 1232	'Collareja redonda'	Humahuaca / Hornaditas	23°05' / 65°22'	3195
15- CCS 1233	'Collareja redonda'	Humahuaca / Hornaditas	23°05' / 65°22'	3195
16- CCS 1203	'Chorcoveña'	Humahuaca / Varas	23°06' / 65°06'	3678
17- CCS 1205	'Churqueña'	Humahuaca / Varas	23°06' / 65°06'	3678
18- CCS 1216	'Collareja'	Humahuaca / Pucara	23°12' / 65°15'	3374
19- CL 751	'Collareja'	Humahuaca / Chaupi Rodero	22°55' / 65°18'	3551
20- CCS 1156	'Collareja'	Tilcara / Maimará	23°36' / 65°24'	2371
21- CCS 1159	'Collareja'	Tilcara / Juella	23°31' / 65°23'	2614
22- CCS 1171	'Collareja'	Tilcara / Casa Colorada	23°34' / 65°20'	3450
23- CL 806	'Chorcoveña'	Valle Grande / Santa Ana	23°20' / 65°20'	3500
24- CL 758	'Collareja redonda'	Valle Grande / Santa Ana	23°20' / 65°20'	3500
25- CL 831	'Collareja'	Valle Grande / Santa Ana	23°20' / 65°20'	3500
26- CCS 1362	'Collareja redonda'	Tumbaya / El Moreno	23°52' / 65°48'	3640
27- CCS 1378	'Churqueña'	Tumbaya / Patacal	23°42' / 65°32'	2629
28- CCS 1380	'Collareja'	Tumbaya / Patacal	23°42' / 65°32'	2629
29- CCS 1388	'Collareja'	Tumbaya / Patacal	23°40' / 65°32'	2900
30- CS 1403	'Collareja'	Tumbaya / Cárcel	23°48' / 65°31'	2493
31- CCS 1340	'Yaguana'	Susques / Sala	23°25' / 66°14'	3496
32- CS 1432	'Collareja'	General Belgrano / Cuevas	23°59' / 65°36'	3010

Tabla 1. Acciones de la variedad 'Collareja' mantenidas *in vitro* en el BAL y procedentes de Jujuy, con su número de colección, sitio de colecta y coordenadas de localización geográfica. Los nombres 'Churqueña' y 'Chorcoveña' son sinónimos de 'Collareja'. Elaborado para la presente edición.

0,75, respectivamente; en tanto T23 y T24 de T16 lo hicieron a 0,59 y 0,55, respectivamente.

El grupo principal de 20 morfotipos posee caracteres cuantitativos promedios y cualitativos diferenciales, a saber: flores de color violeta oscuro con forma pentagonal, con tallos y nerviación de las hojas de color verde (T18, figura 2b). El morfotipo T15 se diferencia del grupo principal por el mayor número de flores y folíolos secundarios y el mayor tamaño sus hojas, en tanto que T16 tiene un elevado número de flores/inflorescencias. Los morfotipos T23 y T24 se diferenciaron del resto por el color violeta claro

y forma rotada en las flores, color púrpura en los tallos y nerviación de las hojas, con un mayor tamaño de las flores (T23, figura 2b). El análisis independiente de los descriptores morfológicos, cuantitativos por un lado y cualitativos por el otro, arrojó un patrón de distribución similar al obtenido al análisis en conjunto (resultados no se muestran).

Variabilidad molecular inferida mediante SSRs

En la totalidad de las muestras analizadas en este estudio los cuatro SSRs resultaron polimórficos. El número de

Planta
1- Altura de la planta (cm);
2- Número de tallos / planta;
3- Alas del tallo;
4- Color del tallo.
Hoja
5- Longitud de hoja (cm);
6- Ancho de hoja (cm);
7- Longitud del peciolo (cm);
8- Longitud del foliolo terminal (cm);
9- Ancho del foliolo terminal (cm);
10- Longitud del peciolo del foliolo terminal (cm);
11- Longitud del 1.º foliolo lateral (cm);
12- Ancho del 1.º foliolo lateral (cm);
13- Longitud del 2.º foliolo lateral (cm);
14- Ancho del 2.º foliolo lateral (cm);
15- Número de pares de foliolos laterales;
16- Número de foliolos intermedios;
17- Número de foliolos laterales secundarios;
18- Distancia del peciolo a la base del foliolo terminal (cm);
19- Disección de la hoja;
20- Margen del foliolo;
21- Base terminal del foliolo;
22- Pubescencia adaxial de la hoja;
23- Pubescencia abaxial de la hoja;
24- Superficie de la hoja;
25- Arqueo terminal de la hoja (punta de la hoja);
26- Ángulo de la base del raquis de la hoja al tallo sobre el centro de la hoja de la planta.
Flor
27- Longitud del pedúnculo (cm);
28- Número de divisiones del pedúnculo;
29- Número de flores/inflorescencias;
30- Longitud del pedicelo (cm);
31- Longitud de la inserción del cáliz a la articulación del pedicelo (cm);
32- Longitud del cáliz (cm);
33- Longitud del acumen de la corola (mm);
34- Longitud del lóbulo del cáliz (mm);
35- Radio de la corola (mm);
36- Ancho del lóbulo de la corola (mm);
37- Longitud de la base al ápice del lóbulo de la corola (cm);
38- Longitud del centro del lóbulo a la unión de lóbulos de la corola (cm);
39- Longitud de la antera (mm);
40- Longitud del estilo (mm);
41- Longitud de la ejerción del estilo (cm);
42- Articulación del pedicelo;
43- Color del cáliz;
44- Simetría del cáliz;
45- Forma de la corola;
46- Color del tejido interpetolar adaxial;
47- Color del tejido interpetolar abaxial;
48- Color de los rayos adaxial de la corola;
49- Color de los rayos abaxial de la corola;
50- Color adaxial del acumen de la corola;
51- Color of abaxial del acumen de la corola.
Tubérculo
52- Forma general del tubérculo;
53- Forma inusual del tubérculo;
54- Profundidad de los ojos del tubérculo;
55- Número de ojos por tubérculos;
56- Distribución de los ojos del tubérculo;
57- Color predominante de la piel del tubérculo;
58- Color secundario de la piel del tubérculo;
59- Distribución del color secundario de la piel del tubérculo
60- Tipo de piel del tubérculo;
61- Color predominante de la carne del tubérculo;
62- Color secundario de la carne del tubérculo.

Tabla 2. Caracteres morfológicos cuantitativos y cualitativos usados en la caracterización de la variedad de papa 'Collareja' de un productor andino (los caracteres cuantitativos son resaltados en negrita) (Adaptado de Gomez, 2000).

fragmentos totales identificados en la Muestra del productor y en la Colección de germoplasma resultó similar, 18 y 19, respectivamente (tabla 3). Sin embargo, el número de fragmentos polimórficos fue mayor en la Colección de germoplasma (15) duplicando a los identificados en la Muestra del productor (7); en tanto el número de patrones generados por los marcadores moleculares resultó ser el doble en la Colección de germoplasma (18) respecto a la Muestra del productor (9) (tabla 3).

La estimación de los valores PIC muestran un mayor grado de polimorfismo detectado en la Colección de germoplasma que en la Muestra del productor, con valores de PIC promedio de 0.58 y 0.32, respectivamente (tabla 3). El STI012 fue el más informativo para la Colección de germoplasma (PIC=0.72), en tanto que el STI014 fue más informativo para la Muestra del productor (PIC=0.57). El STM014 fue monomórfico (PIC=0) únicamente en la Muestra del productor (tabla 3).

Las dos primeras coordenadas principales del ACoorP explicaron el 36,9% y 17,8% respectivamente, de la varianza genética total ($r=0.87$). Los 24 tubérculos que constituyen la Muestra del productor se ubicaron en cada uno de los siete clones o genotipos generados. Los genotipos 1, 2 y 3 estuvieron integrados por más de un tubérculo, mientras que los genotipos 4, 5, 6 y 7 incluyeron solo un tubérculo y cada uno de ellos con un patrón de fragmentos único (figura 3). Las 32 entradas del Banco BAL o Colección de germoplasma se ubicaron en diecisiete genotipos con el empleo de los cuatro SSRs, doce de los genotipos tuvieron patrones de fragmentos de ADN únicos. La totalidad de las entradas de la Colección de germoplasma se distribuyeron en dos grupos de genotipos principales, pero de acuerdo con la morfología que presentan: un grupo entre los genotipos 8 al 17 ('Collareja', morfología oblonga) y el otro grupo entre los genotipos 18 al 24 ('Collareja redonda') (figura 3).

El test de Mantel permitió determinar una alta correlación entre los marcadores morfológicos cualitativos en comparación con los moleculares ($r=0.84$); en cambio una baja correlación fue identificada entre los marcadores morfológicos cuantitativos respecto de los moleculares, así como también entre los morfológicos cuantitativos y cualitativos contra los moleculares, $r=0.13$ y $r=0.15$, respectivamente.

DISCUSIÓN

Un análisis integral de la variedad de papa nativa 'Collareja', la más ampliamente distribuida en el NOA, es necesario para comprender el grado y la distribución de la variabilidad genética y morfológica, y de ese modo contar con un conocimiento general de la variabilidad mantenida en las fincas de los productores y con la estrategia de conservación *ex situ* en el Banco de Germoplasma BAL.

En este estudio se reporta la presencia de variabilidad morfológica y genómica de 'Collareja' en el campo de un productor andino de la localidad de Hornillos. Adicionalmente, se detectó variabilidad genómica en las accesiones de 'Collareja' mantenidas en el BAL (procedentes de

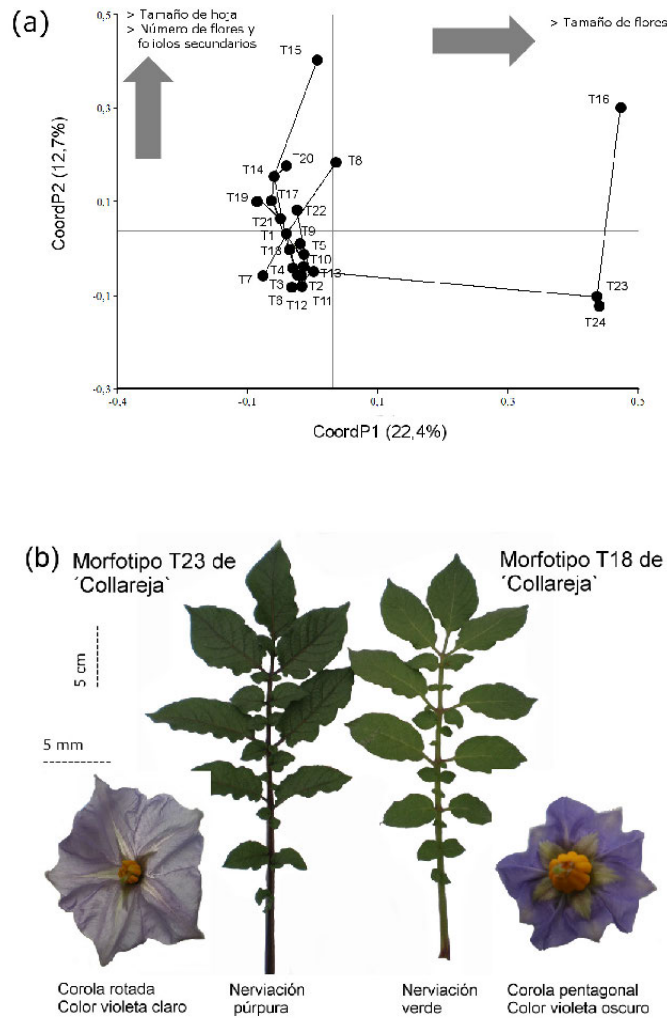


Figura 2. Caracteres fenotípicos analizados en la variedad ‘Collareja’ en la muestra del productor andino. (a) Distribución de los morfotipos en el ACoorP sobre los caracteres morfológicos cualitativos y cuantitativos a partir del coeficiente de similitud general de Gower (Gower, 1971). (b) Principales caracteres cualitativos que diferencian los dos tipos de morfotipos detectados. Adaptado para la presente edición.

SSR	Muestra del productor				Colección de germoplasma			
	Número de fragmentos totales	Número de fragmentos polimórficos	Número patrones	PIC	Número de fragmentos totales	Número de fragmentos polimórficos	Número patrones	PIC
STI 012 (IV)	4	2	2	0.31	4	3	6	0.72
STI 014 (IX)	4	3	4	0.57	4	2	4	0.62
STM 1104 (VIII)	4	0	1	0.00	4	4	2	0.42
STM 2005 (XI)	4	2	2	0.41	7	6	6	0.56
Promedio	-	-	-	0.32	-	-	-	0.58
Total	18	7	9		19	15	18	

Tabla 3. Contenido de información polimórfica (PIC), número de fragmentos totales y polimórficos y patrones generados por los cuatro SSRs. Elaborado para la presente edición.

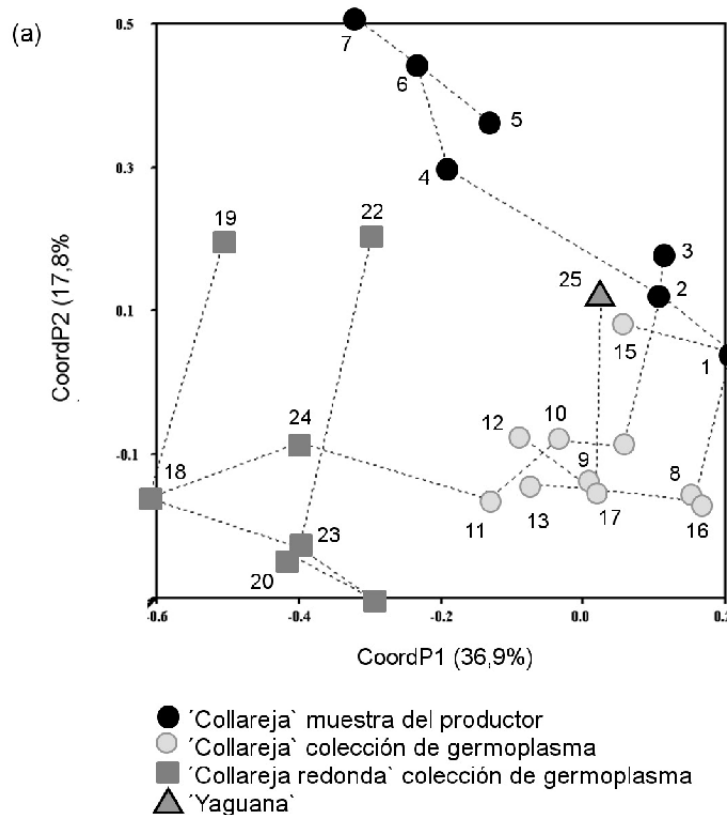


Figura 3. Tubérculos y accesiones de 'Collareja' estudiados con marcadores SSRs. (a) Representación bidimensional de los genotipos detectados en el ACoorP. (b) Tubérculos y accesiones de 'Collareja' agrupadas con su genotipo correspondiente (patrones de fragmentos de ADN) y con sus nombres de colección. Elaborado para la presente edición.

distintas localidades de Jujuy), que resultó diferencial de la determinada en la parcela del productor andino.

El análisis morfológico permitió identificar variantes o morfotipos en la Muestra del productor, con un patrón de distribución diferencial que depende de los descriptores que caracterizan el agrupamiento. Así, la distancia promedio entre pares de morfotipos fue de 0.56, con un rango entre 0.35-0.77, donde no se encontraron morfotipos con más del 75% de similitud. Particularmente distinguibles resultaron los morfotipos T23 y T24 con caracteres morfológicos cuantitativos y cualitativos diferenciales, y T15 y T16 que se diferenciaron únicamente en los cuantitativos. Considerando la morfología uniforme oblonga de los tubérculos de la Muestra del productor, y a que se cultivaron en idénticas condiciones ambientales hasta alcanzar su estadio de floración, es posible que las diferencias fenotípicas observadas sean atribuidas principalmente a la expresión a nivel genético y no a diferencias ecomorfológicas. Por lo expuesto decimos que los descriptores caracterizaron apropiadamente la Muestra del productor, aunque a partir de los caracteres cuantitativos se estableció una categorización medida en porcentaje para discriminar los

morfotipos de la Muestra del productor y así establecer un ordenamiento de acuerdo con la contribución de cada descriptor. Por ejemplo, el tamaño de las hojas y el número de flores/inflorescencias fueron los descriptores con mayor peso para la caracterización morfológica de 'Collareja', en tanto un menor aporte fue establecido para el tamaño de la planta y de las flores. Estos resultados son relevantes para futuras caracterizaciones de 'Collareja', lo que puede extenderse a otras variedades de papas nativas, para discriminar y obtener un mayor grado de diferenciación entre los individuos.

En este estudio se encontró una correlación entre los marcadores morfológicos cualitativos y moleculares ($R=0.84$). Así, la forma de la corola, un carácter cualitativo no afectado por el ambiente y que ha sido usado ampliamente en taxonomía de papa (Hawkes, 1990), contribuyó a diferenciar las plantas en la Muestra del productor, reforzando el valor de su uso en la caracterización del germoplasma de papa nativo. Estas observaciones concuerdan con las realizadas por Gomez (2000) y De Hann (2009) cuando trabajaron con papas nativas, quienes informaron que los caracteres morfológicos no influenciados por el ambiente fueron rele-

(b)

Genotipo	Tubérculo/Entrada	Variedad	Genotipo	Tubérculo/Entrada	Variedad	
1 ●	T2	'Collareja'	9 ○	CCS 1203	'Chorcoyeña'	
	T4	'Collareja'		CCS 1380	'Collareja'	
	T5	'Collareja'		CCS 1388	'Collareja'	
	T6	'Collareja'		CCS 1304	'Collareja'	
	T7	'Collareja'		CCS 1232	'Collareja'	
	T8	'Collareja'		CL 831	'Collareja'	
	T9	'Collareja'		CCS 1205	'Churqueña'	
	T10	'Collareja'		12 ○	CCS 1322	'Collareja'
	T11	'Collareja'		13 ○	CCS 1216	'Collareja'
	T12	'Collareja'		14 ○	CL 806	'Chorcoyeña'
	T14	'Collareja'		15 ○	CCS 1378	'Churqueña'
T17	'Collareja'	16 ○	CS 1403	'Collareja'		
T18	'Collareja'	17 ○	CS 1432	'Collareja'		
T19	'Collareja'	18 ■	CCS 1372	'Collareja redonda'		
T20	'Collareja'		CCS 1320	'Collareja redonda'		
			CCS 1328	'Collareja redonda'		
2 ●	T3	'Collareja'	19 ■	CCS 1368	'Collareja redonda'	
	T15	'Collareja'	20 ■	CCS 1324	'Collareja redonda'	
3 ●	T21	'Collareja'	21 ■	CCS 1233	'Collareja redonda'	
	T22	'Collareja'	22 ■	CL 758	'Churqueña bola'	
4 ●	T13	'Collareja'	23 ■	CCS 1362	'Collareja redonda'	
5 ●	T16	'Collareja'	24 ■	CL 751	'Collareja redonda'	
6 ●	T23	'Collareja'	25 ▲	CCS 1340	'Yaguana'	
7 ●	T24	'Collareja'				
8 ○	CCS 1331	'Collareja'				
	CCS 1212	'Chorcoyeña'				
	CCS 1186	'Chorcoyeña'				
	CCS 1219	'Collareja'				
	CCS 1224	'Collareja'				
	CCS 1175	'Collareja'				
	CCS 1156	'Collareja'				
	CCS 1159	'Collareja'				
CCS 1171	'Collareja'					

vantes para detectar variabilidad morfológica dentro de las papas nativas cultivadas. Contrariamente, no se detectó correlación entre los marcadores morfológicos cuantitativos y los SSRs ($R=0.13$) dado que los primeros no son estables al ambiente y están bajo un control poligénico. Debido a ello, su utilización debe ser cautelosa al momento de verificar diferencias en el germoplasma, coincidiendo con los resultados reportados por Solis *et al.* (2007) en papas cultivadas y por Pissard *et al.* (2008) en *Oxalis tuberosa*.

Al considerar las ventajas y la complementariedad de los marcadores moleculares a los morfológicos, los cuatro SSRs detectaron una mezcla de clones o genotipos en la Muestra del productor. Si bien la morfología de los tubérculos era uniforme al momento del muestreo, estos quedaron agrupados en siete genotipos distintos, donde cuatro de ellos tenían patrones de fragmentos de ADN únicos (figura 3). La parcela bajo estudio se encuentra localizada en una zona clave en cuanto a la producción y comercialización de papas nativas, donde es probable encontrar mezclas de genotipos en los campos de los agricultores. Esto puede deberse a factores tales como el intercambio habitual de papa semilla, la adquisición

en mercados locales o ferias de semillas, sumado a que genotipos diferenciales pueden surgir como consecuencia de la recombinación sexual y el cultivo seguidamente de la semilla botánica (Zimmerer y Douches, 1991). El conjunto de estos factores contribuiría a que el productor mantenga en su campo una mezcla de genotipos de la variedad 'Collareja'. Esta es una de las primeras aproximaciones experimentales para detectar y confirmar la presencia de una mezcla de genotipos en el campo de un productor en la región del NOA de la Argentina. Ispizúa *et al.* (2007) reportaron un alto nivel de diversidad genética dentro de las diferentes variedades de papas nativas en la región NOA, en el que se emplearon 4 SSRs, dos de ellos usados en el presente trabajo (STM1104 y STM2005), pero solo un individuo fue analizado por sitio y localidad.

El análisis de la Colección de germoplasma con los cuatro SSRs resultó en la determinación de 17 genotipos diferentes, donde quedaron distribuidas las 32 accesiones mantenidas *ex situ* en el Banco BAL. Los 17 genotipos se agruparon espacialmente en el ACoorP en dos grupos independientes, donde cada grupo se corresponde con el tipo morfológico 'Collareja' (oblongo) o 'Collareja

redonda (figura 3). Estos resultados empleando cuatro SSR son relevantes dentro de la Colección de germoplasma dado que se agruparon los genotipos en cada uno de los tipos morfológicos, aunque las accesiones de Collareja son procedentes de sitios geográficos muy distantes dentro de la provincia de Jujuy. Adicionalmente, los dos grupos de genotipos revelados en la Colección de germoplasma, se mantuvieron espacialmente separados de los genotipos encontrados en la Muestra del productor que posee morfología de 'Collareja' (oblonga); aunque la separación espacial es evidente, estos últimos genotipos se interconectan a través del AMD únicamente con los genotipos con morfología de 'Collareja'. Es importante resaltar el uso de los SSRs para asistir en la caracterización de germoplasma andino, en nuestro caso, detectando una mezcla de genotipos en la parcela de un productor andino y su relación con genotipos mantenidos *ex situ* en el BAL, relación mayormente cercana a genotipos que comparten el mismo tipo morfológico del tubérculo y más alejada de genotipos con un tipo morfológico distinto.

Este estudio enfocado en la variedad 'Collareja' provee una comprensión preliminar de la variabilidad genética mantenida por un productor andino en su campo de cultivo, y cómo se relaciona aquella con las accesiones mantenidas en el Banco BAL, pero procedentes de distintas regiones ecogeográficas de Jujuy. De acuerdo a nuestros resultados los genotipos de 'Collareja' determinados en el campo del agricultor se diferencian de los genotipos de localidades cercanas y alejadas a este, por, por ello podemos inferir que el número de genotipos que conforman el universo de genotipos de la variedad 'Collareja' será aún mayor. Este trabajo puede ser extendido a otras variedades locales para conocer el universo de genotipos que constituirían cada una de ellas, pero no solamente incrementando el número de individuos para ensayar, sino también el número de campos de agricultores para analizar, y el número de marcadores SSRs.

Los resultados obtenidos en este trabajo sobre la mezcla de genotipos que constituyen una variedad local confirman la definición moderna de *landrace*. Estos consisten de variedades cultivadas que han evolucionado y continúan evolucionando en ambientes agrícolas tradicionales o nuevos, dentro de un área ecogeográfica definida y bajo la influencia del cultivo humano (Casañas, 2017). Adicionalmente, debe considerarse la necesidad de realizar una revisión más profunda sobre el número de tubérculos para coleccionar o muestrear, para su posterior conservación *ex situ*, y de esa manera contribuir a conservar una muestra más representativa del universo de genotipos de cada variedad de papas nativas. Sin embargo, deberá reforzarse la efectividad de la conservación *in situ* de variedades nativas de papas en las fincas de los agricultores, como estrategia que asegurará la disponibilidad y continuidad de la variación genética, reduciendo de este modo la exposición a riesgos de pérdidas de diversidad, pero complementadas con la estrategia *ex situ* para preservar el germoplasma actual de papas nativas.

BIBLIOGRAFÍA

- AKYOL, H.; RICIPUTI, Y.; CAPANOGLU, E.; CABONI, M.F.; VERARDO, V. 2016. Phenolic Compounds in the Potato and Its Byproducts: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*. 17 (6), 835.
- ATENCIO, H.M. 2011. Diversidad en variedades andinas de papa (*Solanum tuberosum ssp. andigena*) evaluada con microsatélites. Tesis Maestría, FCA, Universidad Nacional de Mar del Plata. 135 p. (Disponible: <http://intrabalc.inta.gov.ar/dbtw-wpd/images/Atencio-H-M.pdf> verificado: junio de 2018).
- AYVAZ, H.; BOZDOGAN, A.; GIUSTI, M.M.; MORTAS, M.; GOMEZ, R.; RODRIGUEZ-SAONA, L.E. 2016. Improving the screening of potato breeding lines for specific nutritional traits using portable mid-infrared spectroscopy and multivariate analysis. *Food Chemistry*. 211, 374-382.
- CASAÑAS, F.; SIMÓ, J.; CASALS, J.; PROHENS, J. 2017. Toward an evolved concept of *landrace*. *Frontiers in Plant Science*. 8, 145.
- CLAUSEN, A.M.; COLAVITA, M.; BUTZONITCH, I.; CARRANZA, A.V. 2005. A potato collecting expedition in the province of Jujuy, Argentina and disease indexing of virus and fungus pathogens in Andean cultivars. *Genetic Resources Crop Evolution*. 52, 1099-1109.
- CLAUSEN, A.M.; ISPIZÚA, V.N.; DIGILIO, A. 2010. Conservation and Evaluation of an Endangered Genetic Resource: Native Andean Potato Varieties in Argentina. *The Americas Journal of Plant Science & Biotechnology*. 3, 72-82.
- COLMAN, S.L.; MASSA, G.A.; CARBONI, M.F.; FEINGOLD, S.E. 2017. Cold sweetening diversity in Andean potato germplasm from Argentina. *Journal of the Science of food and agriculture*. 97 (14), 4744-4749.
- DE HAAN, S. 2009. Potato diversity at height: Multiple dimensions of farmer-driven *in situ* conservation in the Andes. PhD Tesis, Wageningen University, Países Bajos. 245 p.
- GHISLAIN, M.; NÚÑEZ, J.; HERRERA, M.D.R.; PIGNATARO, J.; GUSMAN, F.; BONIERBALE, M.; SPOONER, D. 2009. Robust and highly informative microsatellite-based genetic identity kit for potato. *Molecular breeding*. 23 (3), 377-388.
- GOMEZ, R. 2000. Guía para las Caracterizaciones Morfológicas Básicas en Colecciones de Papas Nativas. *International Potato Center (CIP)*, Lima, 1-27. 27 p.
- GOWER, J.C. 1971. General coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics*. 27, 857-874.
- HAWKES, J.G. 1990. The potato: evolution, biodiversity and genetic resources. Oxford. Belhaven Press, Londres. Reino Unido. 259 p.
- HAYMES, H. 1996. Mini-prep method suitable for plant breeding program. *Plant Molecular Biology Reporter*. 14 (3), 280-284.
- HUARTE, M.A.; CLAUSEN, A.M.; CAMADRO, E.L.; CORTÉS, M.C.; MASUELLI, R.W.; CAPEZIO, M.; ECHEVERRERÍA, M. del M.; MANTECÓN, J.; VEGA, E. 1991. Utilización de mayor variabilidad genética en el programa argentino de mejoramiento de papa. Actas 2.º Simposio Latinoamericano sobre recursos genéticos de especies hortícolas. Mar del Plata, Argentina, 191-210.
- INFOSTAT. 2005. InfoStat versión 2005. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- ISPIZÚA, V.N.; GUMA, I.R.; FEINGOLD, S.; CLAUSEN, A.M. 2007. Genetic diversity of potato *landraces* from northwestern Argentina assessed with simple sequence repeats (SSRs). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 54 (8), 1833-1848.
- LITMANTSEVA, L.; MIRONENKI, N.; SHUVALOV, O.; ANTANOVA, O.; KHIUTTI, A.; NOVIKOVA, L.; AFANASENKO, O.; SPOON-

- ER, D.; GAVRILENKO, T. 2014. Characterization of resistance to *Globodera rostochiensis* pathotype Ro1 in cultivated and wild potato species accessions from the Vavilov Institute of Plant Industry. *Plant Breeding*. 133, 660-665.
- MANTEL, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*. 27 (2), 209-220.
- MONTE, M.N.; REY BURUSCO, M.F.; CARBONI, M.F.; CASTELLOTE, M.A.; SUCAR, S.; NORERO, N.S.; COLMAN, S.L.; MASSA, G.A.; COLAVITA, M.L.; FEINGOLD, S.E. 2018. Genetic Diversity in Argentine Andean Potatoes by Means of Functional Markers. *American Journal of Potato Research*. 95 (3), 286-300.
- MONTI, M.C.; IRIGOYEN, R.; CLAUSEN, A.M. 2010. Composición química de papas nativas del noroeste argentino. 24.º Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa (ALAP). Cuzco, Perú. 367-368.
- NEI, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academic of Science, USA*. 70, 3321-3323.
- OKADA, K.A. 1979. Collection and taxonomy of Argentine wild species (tuber-bearing *Solanum*). Comment: Report of the Planning Conference on the Exploration, Taxonomy and Maintenance of Potato Germplasm. October, 15-19. CIP, Lima, Perú. 98-113.
- PELLETIER, Y.; HORGAN, F.G.; POMPON, J. 2011. Potato resistance to insects. *The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology*. 5 (1), 37-52.
- PISSARD, A.; ARBIZU, C.; GHISLAIN, M.; FAUX, A.M.; PAULET, S.; BERTIN, P. 2008. Congruence between morphological and molecular marker inferred from the analysis of the intra-morphotype genetic diversity and the spatial structure of *Oxalis tuberosa*. *Mol. Genetica*. 132, 71-85.
- RODRÍGUEZ, L.; SANJUANELO D.C.; ÑÚSTEZ, C.E.; MORENO-FONSECA, L.P. 2016. Growth and phenology of three Andean potato varieties (*Solanum tuberosum* L.). *Agronomía Colombiana*. 34 (2), 141-154.
- SNEATH, P.H.A.; SOKAL, R.R. 1973. Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. W.H. Freeman and Co, San Francisco, California, EUA.
- SOKAL, R.R.; MITCHENER, C.D. 1958. A statistical method for evaluating systematic relationship. *Univ. Kansas. Science Bulletin*. 38, 1409-1438.
- SOLIS, J.S.; ULLOA, D.M.; RODRÍGUEZ, L.A. 2007. Molecular description and similarity relationships among native germplasm potatoes (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* L.) using morphological data and AFLP markers. *Electronic Journal of Biotechnology*. 10 (3), 436-443.
- SUÁREZ, S.; CHAVEZ, E.; CLAUSEN, A.; FRANCO, J. 2009. *Solanum* tuber-bearing species resistance behavior against *Nacobbus aberrans*. *Journal of Nematology*. 41 (1), 5-10.
- TORDABLE, M. del C.; ANDRADE, A.J.; DOUCET, M.E.; LAX, P. 2018. Histopathology of Andean Potato (*Solanum tuberosum* Andigenum group) varieties parasitized by the false root-knot nematode, *Nacobbus aberrans*. *Brazilian Journal of Biology*. 78 (4), 679-685.
- VALIÑAS, M.; LANTERI, M.L.; TEN HAVE, A.; ANDREAU, A.B. 2017. Chlorogenic acid, anthocyanin and flavan-3-ol biosynthesis in flesh and skin of Andean potato tubers (*Solanum tuberosum* subsp. *andigena*). *Food Chemistry*. 229, 837-846.
- ZIMMERER, K.; DOUCHES, D. 1991. Geographical Approaches to Crop Conservation: The Partitioning of Genetic Diversity in Andean Potatoes. *Economic Botany*. 45, 176-189.

Evaluación de la intersembrado de rúcula (*Eruca sativa* Mill.) y lechuga (*Lactuca sativa* L.) en Colonia Benítez, Chaco

SHINDOI, M.M.J.F.¹; AVICO, E.L.¹; SARCO, P.C.¹; MONTEROS SOLITO, D.E.¹

RESUMEN

El crecimiento demográfico progresivo genera la expansión de los centros urbanos hacia zonas donde comúnmente se ubican los cinturones hortícolas; este aumento poblacional ejerce una fuerte demanda de esas tierras productivas para destinarlas a proyectos de desarrollos urbanísticos. Ante esta situación, es necesaria la aplicación de tecnologías que permitan un mejor aprovechamiento del espacio cultivado, como la práctica de la intersembrado, que consiste en sembrar dos o más especies en la misma superficie para aumentar su productividad. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la intersembrado sobre el rendimiento y características morfológicas en lechuga y rúcula usando diferentes distanciamientos entre líneas, en la localidad de Colonia Benítez, Chaco. Los tratamientos fueron: R= rúcula a 0,2 m entre líneas; L= lechuga a 0,4 m entre líneas; LR1= intersembrado lechuga–rúcula, lechuga a 0,4 m entre líneas y una línea de rúcula entre las líneas de lechuga y LR2= intersembrado lechuga–rúcula, lechuga a 0,4 m entre líneas y dos líneas de rúcula entre las líneas de lechuga. La cosecha de rúcula se realizó a los 30 días después de la siembra (DDS) y la de lechuga a los 62 DDS, evaluándose el peso fresco aéreo (PF), el peso fresco total (PFT) y la tasa de tierra equivalente (*Land Equivalent Ratio*; LER), la cual es definida como la superficie total de monocultivo necesaria para lograr el mismo rendimiento que en intersembrado. En ambos cultivos se contó el número total de hojas y en lechuga se midió la longitud de tallo, el peso seco de las hojas y el peso seco del tallo. La mayor producción total se observó en el tratamiento LR1, seguida por LR2 y L. La intersembrado tuvo un efecto negativo sobre el cultivo de lechuga, disminuyendo el rendimiento; este efecto fue mayor cuando fueron dos las líneas de rúcula intersembradas (LR2). En lechuga el número de hojas y la longitud del tallo también se vieron afectados. En LR1 la intersembrado no tuvo efecto en el rendimiento de rúcula; sin embargo, en LR2 el efecto fue negativo, tanto para lechuga como para rúcula. En ninguno de los tratamientos se detectó un efecto sobre el número de hojas de rúcula. El tratamiento de LR1 presentó un LER superior a 1, considerándose que este tratamiento tuvo mejor performance en cuanto a su productividad y calidad de plantas.

Palabras clave: asociación de cultivos, hortalizas de hoja, tasa de tierra equivalente, LER.

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Colonia Benítez, Marcos Briolini 750 (3505), Chaco, (Argentina).
Correo electrónico: shindoi.mauro@inta.gob.ar; avico.eda@inta.gob.ar

ABSTRACT

Progressive demographic growth generates the expansion of urban centers towards areas where horticultural belts are commonly located; this population increase produces a hard demand for these productive lands to be used for urban development projects. Given this situation, it is necessary to apply technologies such as intercropping, that consists of planting two or more species on the same field to increase their productivity. The objective of this work was to study the effect of intercropping on yield and morphological characteristics of lettuce and rocket using different distances between rows at Colonia Benítez, Chaco. Treatments were: R= rocket at 0.2 m between rows; L= lettuce at 0.4 m between rows; LR1= lettuce-rocket intercropped, with lettuce at 0.4 m between rows and one row of rocket between lettuce rows and LR2= lettuce-rocket intercropped, with lettuce at 0.4 m between rows and two rows of rocket between lettuce plants. Rocket was harvested 30 days after sowing (DAS) and lettuce 62 DAS, when the above ground fresh weight (FW) and total fresh weight (TFW) were determined, and land equivalent ratio (LER), defined as the total land area of the sole crop required to achieve the same yields as the intercrops, was calculated. For both crops the total number of leaves was counted and stem length, leaf dry weight and stem dry weight were measured on lettuce. The highest total production was observed in the LR1 treatment, followed by LR2 and L. Intercropping had a negative effect on lettuce, decreasing yield; this effect was greater when there were two lines of rocket (LR2). In lettuce the number of leaves and the length of the stem were also affected. Rocket yield was not affected in LR1, however, in LR2 the effect was negative for both lettuce and rocket. There was no effect on the number of leaves of rocket in any of the treatments. LR1 presented a LER higher than 1. We consider that this was the treatment with the best performance in productivity and plants quality.

Keywords: crop association, leafy vegetables, land equivalent ratio, LER.

INTRODUCCIÓN

La principal fuente de aprovisionamiento de hortalizas frescas de las grandes ciudades la constituyen sus cinturones verdes y dentro de este rubro las más cultivadas son las comúnmente llamadas verduras de hoja (Fernández Lozano, 2012). Las principales hortalizas producidas dentro del cinturón verde del Gran Resistencia son lechuga, perejil, acelga y rúcula. La lechuga es una de las principales hortalizas de hoja producida y consumida a nivel país, la rúcula es la que mayor crecimiento ha tenido en los últimos años en la mayoría de los mercados, probablemente por su ciclo corto y rápido retorno económico (Castagnino, 2009).

El progresivo crecimiento poblacional, la consiguiente expansión de los centros urbanos hacia zonas productivas donde antes estaban ubicados los cinturones hortícolas y la fuerte demanda que ejercen los desarrollos urbanísticos sobre tierras productivas exigen la aplicación de tecnologías para aumentar e intensificar la productividad por unidad de superficie cuidando el medioambiente (Mesa y Giusso, 2014).

Una opción para intensificar el uso de los recursos consiste en la siembra de dos o más cultivos al mismo tiempo en el mismo lugar. La interseembra es definida como la siembra de dos o más especies en la misma superficie, donde comparten el uso de los recursos durante todo su ciclo de cultivo o parte de este. La interseembra permite hacer un uso eficiente del espacio, el tiempo y de los recursos agua, suelo, radiación y mano de obra (Fukai y Trenbath, 1993; Barros Junior *et al.*, 2011). La finalidad de esta es maximizar las relaciones positivas y minimizar las negativas entre los cultivos combinados.

Numerosas investigaciones mencionan los efectos benéficos de la interseembra, entre los que se pueden citar mayor producción por unidad de área, aumento de la diversidad biológica, la protección del suelo, el uso eficiente de la tierra y un mejor aprovechamiento de los recursos e insumos utilizados (Fernández *et al.*, 2006; Fernández *et al.*, 2008; Shindoi *et al.*, 2009; Shindoi y Monteros, 2010; Nascimento *et al.*, 2011; Shindoi *et al.*, 2011).

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de la interseembra sobre el rendimiento y características morfológicas en lechuga y rúcula usando diferentes distanciamientos entre líneas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en la EEA del INTA Colonia Benítez, entre los meses de julio y diciembre de 2016. La localidad de Colonia Benítez, provincia de Chaco se encuentra ubicada a 27° 25' latitud sur y 58° 56' longitud oeste y a 54 m s. n. m. Según Köppen el clima del sector oriental de la provincia es clasificado como (Cf) climas templados húmedos (Strahler y Strahler, 1997). Los valores medios de temperatura son de 22 °C y la precipitación anual es de 1300 mm. El suelo está clasificado como un Argiudol óxico, familia limosa fina, mixta, hipertérmica correspondiente a la serie Tragadero.

Los cultivos utilizados en el experimento fueron rúcula cultivada (*Eruca sativa* Mill.) y lechuga cv. Brisa (*Lactuca sativa* L.), sembrados solos y en interseembra. El distanciamiento entre líneas y la densidad que se utilizó es la más común entre los productores de la zona y en los tratamientos de interseembra es el resultado de la siembra de 1 o 2 líneas de rúcula entre las líneas de lechuga.

Los tratamientos fueron:

R= rúcula sola a 0,2 m entre líneas quedando definidas 5 líneas por unidad experimental.

L= lechuga a 0,4 m entre líneas quedando definidas 3 líneas por unidad experimental.

LR1= intersembrado lechuga-rúcula simple a 0,2 m entre líneas, 1 línea de rúcula entre las líneas de lechuga quedando definidas 5 líneas por unidad experimental (3 líneas de lechuga y 2 de rúcula).

LR2= intersembrado lechuga-rúcula doble a 0,13 m entre líneas y 2 líneas de rúcula entre las líneas de lechuga quedando definidas 7 líneas por unidad experimental (3 de lechuga y 4 de rúcula).

La siembra se realizó el 17/07/2016 con sembradora manual a chorro continuo en platabandas de 1 m de ancho. El ensayo se mantuvo libre de malezas manualmente durante todo el ciclo y la fertilización de base fue con abono compuesto a razón de 10 L.m⁻². Cada unidad experimental tenía 1 m de ancho por 5 m de largo, ocupando una superficie de 5 m²; se cosecharon 2 m lineales de las líneas centrales, dejándose las correspondientes borduras. La cosecha de rúcula se realizó a los 30 días después de la siembra (DDS) y la de la lechuga a los 62 DDS, determinándose peso fresco aéreo (PF) de cada cultivo por tratamiento en g.m⁻¹ lineal y peso fresco total (PFT) por tratamiento, entendiéndose esto último como el rendimiento en g.m⁻² de cada tratamiento, siendo igual al producto de la biomasa aérea de cada cultivo en g.m⁻¹ lineal por el número de líneas de cada cultivo en cada tratamiento. Al momento de la cosecha, se contó el número total de hojas en ambos cultivos, y en lechuga, además, se midió longitud de tallo. Como índice de eficiencia, se determinó la tasa de tierra equivalente o *land equivalent ratio* (LER), valor que expresa el área relativa de tierra cultivada con un cultivo necesaria para obtener el mismo rendimiento que en la intersembrado: $LER = (CA/MA) + (CB/MB)$, donde CA y CB es el rendimiento del cultivo en intersembrado y MA y MB son los rendimientos con un único cultivo (Monzón *et al.*, 2014). Un valor de LER mayor a 1 significa que la intersembrado es más productiva en términos relativos que la suma de los cultivos individuales.

El diseño experimental utilizado fue en bloques completos al azar con 4 repeticiones. Con los datos obtenidos se realizó análisis de la varianza y comparación de medias mediante el test de Duncan al 5%. Con los datos de LER se realizó una prueba de T bilateral para un parámetro, utilizando el software Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2008).

RESULTADOS

Peso fresco total y LER

Considerando el PFT, el tratamiento LR1 presentó diferencias significativas respecto de L. Los tratamientos LR1 y LR2 no fueron diferentes estadísticamente entre sí. El valor de LER fue significativamente mayor a 1 en el tratamiento LR1 (tabla 1).

Tratamientos	PFT		PFT	LER
	Lechuga	Rúcula		
R		5444,2	5444,2	1
L	3405,8		3405,8 a	1
LR1	2557,5	2186,7	4744,2 b	1,83*
LR2	989,3	2863,4	3852,6 ab	0,99
CV			15,9	20,6

Tabla 1. Peso fresco total (PFT g.m⁻²) por tratamiento y cultivo y tasa de tierra equivalente (LER). R= rúcula, L= lechuga, LR1= intersembrado lechuga-rúcula simple y LR2= intersembrado lechuga-rúcula doble.

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

*Significativamente diferente de 1 ($p > 0,05$).

En los tratamientos de intersembrado la participación del cultivo de lechuga en el rinde total disminuyó cuando se aumentó el número de líneas de rúcula (figura 1).

Peso fresco lechuga

En la figura 2a se expresan los rendimientos de lechuga en g.m⁻¹. El mayor valor se obtuvo como cultivo único (L); sin embargo, ese rendimiento no fue diferente estadísticamente respecto del tratamiento LR1. El menor PF de lechuga fue con LR2; este tratamiento fue significativamente inferior a L y LR1.

En relación con el **número de hojas** para cosecha en el cultivo de lechuga, el tratamiento L presentó una media de 12,5 hojas ($\pm 1,9$), valor significativamente mayor a los tratamientos LR1 y LR2, los que a su vez no se diferenciaron significativamente entre sí (fig. 2b). Respecto al largo del tallo, las plantas de lechuga en L presentaron una mayor longitud ($7,48 \pm 2,2$ cm) diferenciándose estadísticamente de LR2, pero no de LR1 (fig. 2c).

Peso fresco rúcula

El PF de rúcula en g.m⁻¹, mostró los máximos valores en los tratamientos LR1 y R sin diferencias significativas entre estos; pero sí entre estos y LR2, el que presentó el menor rinde (fig. 3).

El análisis de la varianza de la variable número de hojas para cosecha en rúcula no fue significativo (datos no mostrados), siendo el valor promedio de hojas de $6 \pm 0,8$.

DISCUSIÓN

Los tratamientos de intersembrado aumentaron la producción total por unidad de superficie, confirmando las ventajas productivas de la intersembrado con respecto a los cultivos solos; similares resultados fueron obtenidos por otros autores como Fernández *et al.* (2006, 2008); Costa *et al.* (2007); Barros Junior *et al.* (2009, 2011); Shindoi *et al.*

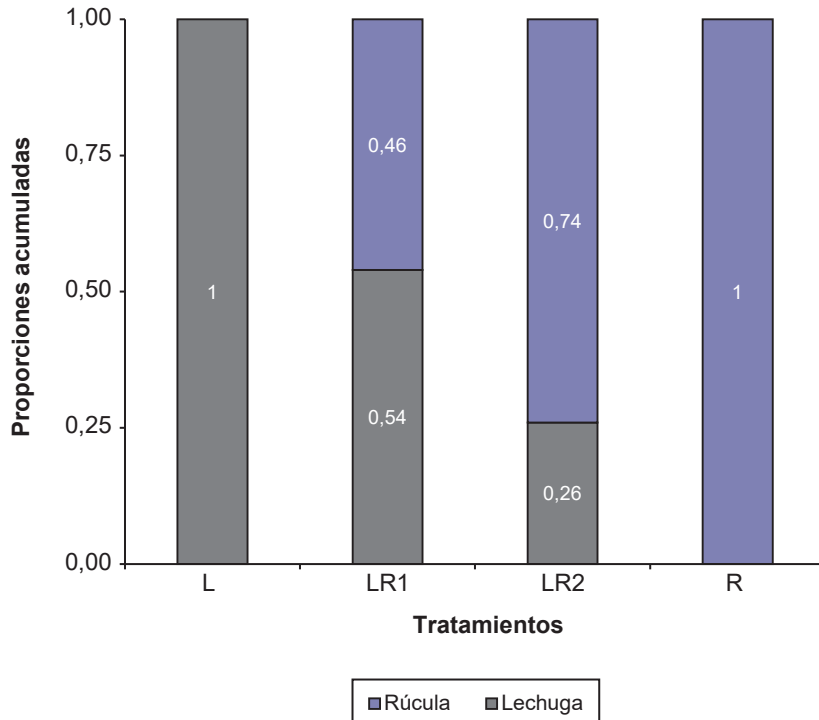


Figura 1. Participación de cada cultivo respecto del total por tratamiento. R= rúcula, L= lechuga, LR1= intersembra lechuga-rúcula simple y LR2= intersembra lechuga-rúcula doble.

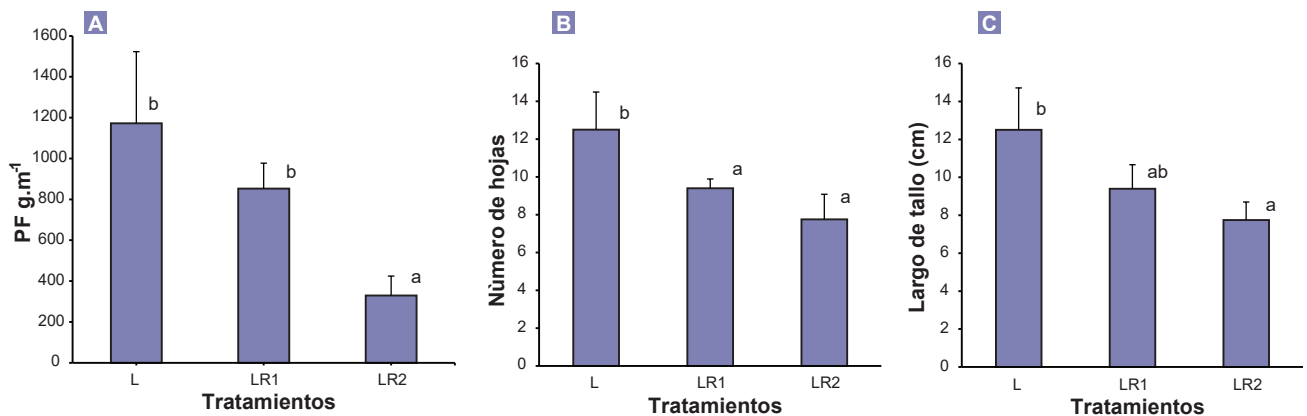


Figura 2. Peso fresco (PF; g.m⁻¹ lineal) (a), número de hojas (b) y longitud del tallo (c) de lechuga para los distintos tratamientos. Las barras indican el desvío estándar de la media. Letras diferentes indican medias significativamente diferentes (p<0,05). L= lechuga, LR1= intersembra lechuga-rúcula simple y LR2= intersembra lechuga-rúcula doble.

al. (2009, 2011); Shindoi y Monteros (2010) y Cenoz *et al.* (2010) utilizando cultivos hortícolas. El crecimiento erecto y el ciclo corto de la rúcula respecto de la lechuga explican este resultado (Costa *et al.*, 2007; Barros Junior *et al.*, 2009; Nascimento *et al.*, 2011); la curva de crecimiento de lechuga presenta su máxima tasa a partir de los 40 DDS (Bouzo y Favaro, 2002) y la máxima absorción de nutrientes durante los 20 a 30 días previos a la cosecha (Castagnino, 2009), para ese momento la rúcula ya había sido cosechada, quedando los recursos (suelo, agua y luz) a

disposición de la lechuga justo en la etapa de mayor crecimiento. En este sentido Fukay y Trenbath (1993) afirman que la productividad de los cultivos intersebrados es mayor cuando mayor es la diferencia en el ciclo entre ellos, debido a los diferentes requerimientos de cada cultivo en cada etapa. Esta diferencia temporal en el uso de los recursos también fue citada en intersembrias de maíz-soja (Monzón *et al.*, 2014).

Analizando la producción total de los tratamientos LR1 y

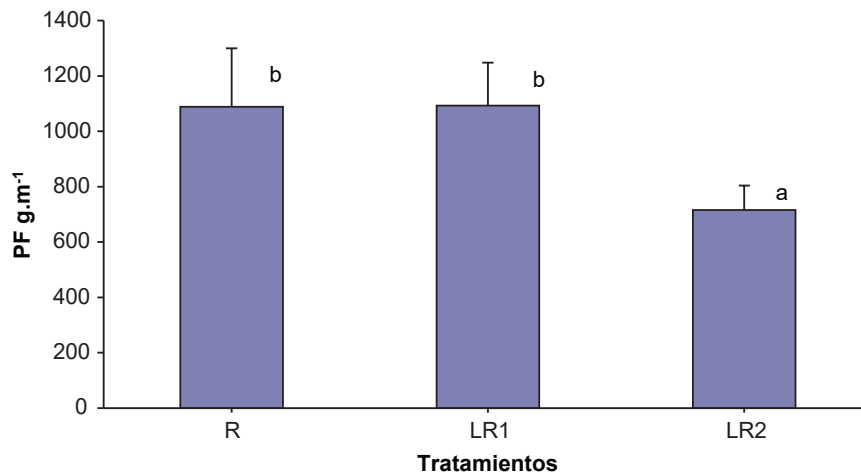


Figura 3. Peso fresco de rúcula (PF; g.m⁻¹ lineal) para los distintos tratamientos.

Las barras indican el desvío estándar de la media. Letras diferentes indican medias significativamente diferentes ($p < 0,05$). R= rúcula, LR1= intersembrado lechuga-rúcula simple y LR2= intersembrado lechuga-rúcula doble.

LR2, se ve que solo el primero fue superior a L, a pesar de que en ambos casos (LR1 y LR2) la rúcula fue cosechada a los 30 DDS. Esto demuestra que el momento en el cual finaliza la relación (lechuga-rúcula) es un factor importante en el resultado productivo de la intersembrado, pero no el único. Deja en claro que, si bien los ciclos de cultivos son importantes, la distancia entre especies puede producir una modificación del ambiente en el suelo que influye sobre el resultado de la intersembrado de cultivos (Silva *et al.*, 2000 y Oliveira *et al.*, 2010). Respecto de esto último, el manejo de los nutrientes juega un rol importante y requiere de ajustes teniendo en cuenta cada situación en particular (Oliveira *et al.*, 2004, 2010). Barros Junior *et al.* (2011), observaron en la intersembrado de rúcula y lechuga una reducción del 50% en el rendimiento de lechuga con respecto al máximo cuando este no se fertilizaba.

Observando la participación de cada cultivo respecto del total, se detectó una relación negativa de la intersembrado de rúcula sobre el rendimiento del cultivo de lechuga, ya que este último mostró en el tratamiento LR2 una disminución en su rendimiento. Esta disminución es máxima cuando menor es la distancia entre líneas, pasando de un 54% de participación respecto del total de biomasa producida en LR1, al 26% en LR2. El efecto o la influencia que producen las plantas intersembradas con sus vecinas, sean estas de la misma especie o no, está relacionado con cambios en el ambiente edáfico o aéreo (Vandermeer, 1989). La producción total lograda en el tratamiento LR2 es explicada por el aporte de rúcula, debido a la mayor densidad de plantas. La respuesta del cultivo de rúcula en densidades altas es la reducción del rendimiento individual por planta; sin embargo, esta merma puede compensarse hasta un determinado nivel de competencia con el incremento del rendimiento por unidad de área (Nascimento *et al.*, 2011), pero una vez su-

perado este nivel la producción por unidad de área también disminuye (Purquerio *et al.*, 2007).

Solamente el tratamiento LR1 evidenció un valor de LER significativamente mayor a 1. Numerosos autores corroboran estos resultados favorables a la intersembrado (Cenoz *et al.*, 2010; Shindoi y Monteros, 2010; Barros Junior *et al.*, 2011; Monzón *et al.*, 2014). Cuando se obtiene un valor de índice LER próximo a 1, como el obtenido en LR2 (0,99), se comprueba que existen límites para la intersembrado de cultivos y que este resultado depende del cultivar, la época de cultivo y la densidad de plantas entre otros factores (Oliveira *et al.*, 2004; Nascimento *et al.*, 2018).

En función a los cambios observados en los rendimientos de cada cultivo en g.m⁻¹, se puede clasificar a los efectos de la interrelación de cultivos en neutros, negativos o positivos. En el tratamiento LR1, ambos cultivos mostraron una relación neutra, ya que los rendimientos de rúcula y lechuga en intersembrado no fueron significativamente diferentes a los obtenidos en los cultivos sembrados solos. Similares resultados fueron obtenidos por Costa *et al.* (2007), en ensayos de otoño-invierno y de primavera.

En el tratamiento LR2, la relación fue negativa para lechuga y rúcula. Ambos cultivos bajaron su producción probablemente como consecuencia de una competencia interespecífica más intensa entre ambos cultivos por el menor distanciamiento (Oliveira *et al.*, 2004). El rendimiento en g.m⁻¹ de rúcula en el tratamiento R fue mayor que en LR2, debido a la ausencia de competencia interespecífica y al mayor distanciamiento entre líneas de rúcula en R respecto de LR2. Trabajos como el de Freitas *et al.* (2009) demostraron que, con distanciamientos entre líneas de 0,2 m, el cultivo de rúcula muestra efectos negativos por competencia intraespecífica. Por su parte Nascimento *et al.* (2011), utilizando los mismos cultivos con distintos espaciamientos

entre líneas, obtuvieron variación en el efecto de distancia en el cultivo de lechuga bajo intersembrado pero no en rúcula. Utilizando otras especies, Monzón *et al.* (2014), en intersembrados con maíz y soja, observaron que el maíz tenía un comportamiento dominante sobre la soja. En este ensayo, la rúcula se presenta como el cultivo dominante respecto de la lechuga. Las diferencias entre especies en cuanto a la captura de los recursos ambientales y la eficiencia de conversión podrían explicar estos resultados (Fukay y Trenbath, 1993); más evidente la presión de competencia es más evidente cuando los ciclos de cultivos son más cortos (Monzón *et al.*, 2014). Al respecto Costa *et al.* (2007) demostraron que esta situación de dominancia puede ser modificada cuando se retrasa la siembra del cultivo de rúcula respecto del trasplante de lechuga al no coincidir con el periodo crítico de máxima demanda de recursos.

El número de hojas para cosecha en lechuga se vio influenciado con la intersembrado, dando un menor número de hojas en los tratamientos LR1 y LR2. Una similar respuesta a la competencia fue hallada por Oliveira *et al.* (2010) en Brasil con los mismos cultivos en un sistema de intersembrado.

La longitud del tallo de lechuga fue otra variable que respondió a la intersembrado acortando su longitud; este efecto es mayor a menor distancia entre líneas de cultivo. Este efecto es contrario a lo esperado, ya que una respuesta a la competencia por sombreado provocaría cambios en la morfología de la planta y/o floración prematura al detectar la presencia de otra especie (Keuskamp *et al.*, 2012; Galón *et al.*, 2016), la elongación del tallo es uno de los síntomas evidentes en lechuga cuando va a florecer (Di Benedetto, 2005). Oliveira *et al.* (2010) no hallaron diferencias en la altura de plantas de lechuga consociadas con rúcula; pero sí en el número de hojas.

La longitud de tallo y el número de hojas en lechugas intersembradas evidencian una planta de lechuga más compacta en los tratamientos de intersembrado que en los sembrados solos, esto puede tener consecuencias negativas en la etapa comercial del producto. Autores como Jover (2014), Barros Junior *et al.* (2009) y Purquerio *et al.* (2007) hacen mención a la importancia de la pérdida de calidad visual del producto logrado cuando se aumentó la productividad por unidad de superficie.

Contrario a lo esperado el número de hojas para cosecha en rúcula no fue afectado por la intersembrado, esto se contradice con lo mencionado por Oliveira *et al.* (2010), quienes detectaron diferencias en esta variable, siendo mayor el número de hojas en monocultivo que en intersembrado. Al respecto Freitas *et al.* (2009) evidenciaron competencia intraespecífica en esta variable con distanciamientos de 0,2 m entre líneas.

CONCLUSIONES

Dadas las condiciones de este ensayo se puede concluir que:

El rendimiento de lechuga intersembrada con una línea de rúcula no presentó diferencias respecto del rendimiento de lechuga obtenido en monocultivo.

La intersembrado ejerció un efecto negativo sobre el rendimiento del cultivo de lechuga, cuando fueron 2 las líneas de rúcula intersembradas. El número de hojas y la longitud del tallo en lechuga tuvieron similar comportamiento acentuándose este efecto también en la intersembrado lechuga con 2 líneas de rúcula.

La intersembrado tuvo un efecto neutro sobre el rendimiento de rúcula en la intersembrado lechuga-rúcula simple; sin embargo, en la intersembrado lechuga-rúcula doble el efecto fue negativo.

La intersembrado lechuga-rúcula simple tuvo un valor LER superior a 1, demostrando ser una alternativa interesante para mejorar la productividad.

Se puede aceptar la hipótesis de trabajo efectos beneficios de la intersembrado con estos resultados.

BIBLIOGRAFÍA

- BARROS JUNIOR, A.P.; CECÍLIO FILHO, A.B.; REZENDE, B.L.A.; PÔRTO, D.R.Q.; PRADO, R.M.; SILVA, G.S. 2009. Avaliação agrônômica do consorcio alface x rúcula em diferentes adubações nitrogenadas. *Horticultura Brasileira* 27:1007-1012.
- BARROS JUNIOR, A.P.; CECÍLIO FILHO, A.B.; REZENDE, B.L.A.; PÔRTO, D.R.Q.; PRADO, R.M. 2011. Nitrogen fertilization on intercropping of lettuce and rocket. *Horticultura Brasileira* 29:398-403.
- BOUZO, C.A.; FAVARO, J.C. 2002. Curva de crecimiento adimensional en lechuga para el fraccionamiento de la fertilización nitrogenada. *Agronomía Tropical* 52(2):187-196.
- CASTAGNINO, A.M. 2009. Manual de cultivos hortícolas innovadores. 1.ª Edición. Ediciones Hemisferio Sur S.A. 372 p.
- CENOZ, P.J.; BURGOS, A.M.; BALBI, C.N. 2010. La densidad de plantas como variable de rendimiento cultural y económico de cuatro cultivos consociados bajo las condiciones agroecológicas del nordeste de Argentina (NEA) *Horticultura Argentina* 29(29):18-25.
- COSTA, C.C.; CECÍLIO FILHO, A.B.; REZENDE B.L.A.; BARBOSA, J.C.; GRANGEIRO, L.C. 2007. Viabilidade agrônômica do consorcio de alface e rúcula, em duas épocas de cultivo. *Horticultura brasileira* 25:034-040.
- DI BENEDETTO, A. 2005. Manejo de Cultivos Hortícolas. Bases ecofisiológicas y tecnológicas. 1.ª Edición. Orientación Gráfica Editora. 373 p.
- DI RIENZO, J.A.; CASANAVES, F.; BALZARINI, M.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. 2008. Infostat versión 2008, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- FERNANDEZ LOZANO, J. 2012. La producción de hortalizas en Argentina. Caracterización del sector y zonas de producción. CMCCBA, Argentina. (Disponible: http://www.central-servicios.com.ar/cmcbaziptecnicas/la_produccion_de_hortalizas_en_argentina.pdf verificado: 23 de enero de 2018).
- FERNANDEZ, N.N.; SHINDOI, M.M.J.F.; MONTEROS SOLITO, R.I.; PUPPO, F.A.; MONTEROS SOLITO, D.E.; BENNASAR VILCHES, M.P.; AGUIRRE, C.M. 2006. Rendimiento del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en un sistema de siembra asociada. xxvii Reunión de Comunicaciones científicas y Técnicas y Reunión de Extensión, Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE Corrientes, Argentina.
- FERNANDEZ, N.N.; SHINDOI, M.M.J.F.; ACEVEDO, R. 2008. Evaluación del impacto de dos sistemas de siembra y efecto re-

sidual de la aplicación de abono orgánico en cultivos hortícolas. *Horticultura Argentina* 27(64):85.

FREITAS, K.K.C.; BEZERRA NETO, F.; GRANGEIRO, L.C.; LIMA, J.S.S.; MOURA, K.H.S. 2009. Desempenho agrônomico de rúcula sob diferentes espaçamentos e épocas de plantio. *Revista Ciencia Agronomica* 40(3):449-454.

FUKAI, S.; TRENBATH, B.R. 1993. Processes determining intercrop productivity yields of component crops. *Field Crops Research*. 34:247-271.

GALON, L.; FORTE, C.T.; GIACOMINI, J.P.; REICHERT JR, F.W.; SCARIOT, M.A.; DAVID, F.A.; PERIN, G.F. 2016. Competitive ability of lettuce with ryegrass. *Planta Daninha, Vicosa MG*, 34(2):239-247.

JOVER, P.L. 2014. Verduras de hoja. Información para Extensión. INTA EEA Colonia Benítez, Chaco. (Disponible: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_-_verduras_de_hoja.pdf verificado: 06 de abril de 2018)

KEUSKAMP, D.H.; KELLER, M.M.; BALLARE, C.L.; PIERIK, R. 2012. Blue light regulated shade avoidance. *Plant Signaling & Behavior* 7(4):514-517.

MESA, A.; GIUSSO, C. 2014. Modelos de urbanización en tierras de alta vulnerabilidad ambiental. Análisis de la ocupación periférica del área metropolitana de Mendoza. *Cuaderno Urbano. Espacio, cultura, Sociedad*. 16(16):5-26.

MONZON, J.P.; MERCAU, J.L.; ANDRADE, J.F.; CAVIGLIA, O.P.; CERRUDO, A.G.; CIRILO, A.G.; VEGA, C.R.C.; ANDRADE, F.H.; CALVIÑO, P.A. 2014. Maize-soybean intercropping alternatives for the Pampas. *Field Crops Research* 162:48-59.

NASCIMENTO, C.S.; CECÍLIO FILHO, A.B.; NASCIMENTO, C.S.; DA SILVA, H.M.; ALVES, A.P.L. 2011. Densidades populacionais de consórcios de alface rúcula: efeitos na produtividade das culturas. *Ciência & Tecnologia: FATEC-JB, Jaboticabal* v. 3

NASCIMENTO, C.S.; NASCIMENTO, C.S.; CECÍLIO FILHO, A.B. 2018. Economic feasibility of lettuce intercropped with rocket

in function of spacing and growing season. *Revista Caatinga, Mossoro* 31(1):106-116.

OLIVEIRA, E.Q.; BEZERRA NETO, F.; NEGREIROS, M.Z.; BARROS JUNIOR, A.P. 2004. Desempenho agroeconômico de alface em sistema solteiro e consorciado com cenoura. *Horticultura Brasileira* 22(4):712-717.

OLIVEIRA, E.Q.; SOUZA, R.J.; CRUZ, M.C.M.; MARQUES, V.B. FRANCA, A.C. 2010. Productividade de alface e rúcula, em sistema consorciado, sob adubação orgânica e mineral. *Horticultura Brasileira* 28:36-40.

PURQUERIO, L.F.V.; DEMANT, L.A.R.; GOTO, R.; VILLAS BOAS, R.L. 2007. Efeito da adubação nitrogenada de cobertura e do espaçamento sobre a produção de rúcula. *Horticultura Brasileira* 25(3):464-470.

SHINDOI, M.M.J.F.; Márquez, R.I.; PUPPO, F.A. 2009. Fertilización orgánica del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) asociado y sin asociar. *Horticultura Argentina* 28(67):95.

SHINDOI, M.M.J.F.; MONTEROS SOLITO, D.E. 2010. Evaluación del uso eficiente de la tierra en una siembra asociada de lechuga (*Lactuca sativa* L.), perejil (*Petroselinum crispum*) y acelga (*Beta vulgaris* var. Cicla). Libro de Resúmenes. xxxiii Congreso Argentino de Horticultura. 493 p.

SHINDOI, M.M.J.F.; MONTEROS SOLITO, D.E.; MARQUEZ, R.I. 2011. Evaluación del rendimiento de lechuga, zanahoria y acelga en una siembra asociada. Libro de Resúmenes. xxxiv Congreso Argentino de Horticultura. 479 p.

SILVA, V.F.; BEZERRA NETO, F.; NEGREIROS, M.Z.; PEDROSA, J.F. 2000. Comportamento de cultivares de alface em diferentes espaçamentos sob temperatura e luminosidade elevadas. *Horticultura Brasileira* 18(3):183-187.

STRAHLER, A.N.; STRAHLER A.H. 1997. *Geografía Física*. 3.ª Edición. Editorial Omega. Barcelona España. 550 p.

VANDERMEER, J. 1989. *The ecology of intercropping*. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido 237 p.

Metodología para el registro, seguimiento y monitoreo de la entrega de semilla y realización de huertas en San Pedro, provincia de Buenos Aires (Argentina)

PIOLA, M.¹; HANSEN, L.²; LILJESTROM, V.²; MARCOZZI, P.²

RESUMEN

La estrategia anual de ProHuerta realiza ajustes a nivel territorial en función de la experiencia y las directivas programáticas. En 2017 se incorporaron tecnologías de la información, en un plan que incluyó el registro *online* de la información de entrega de semillas, el monitoreo *in situ* de un área identificada como vulnerable y otro colaborativo a partir del envío de información de los propios huerteros vía WhatsApp. Los resultados de este trabajo brindan una caracterización de la población con la que se trabajó en la campaña otoño-invierno, una modalidad concreta de implementar el registro digital y geolocalización de las huertas a partir de herramientas accesibles y gratuitas de Google, y algunas reflexiones en torno a cómo pensar y trabajar con la noción de vulnerabilidad que caracteriza a la población objetivo de ProHuerta.

Palabras clave: SIG, estadística, población vulnerable, huertas familiares, TIC, comunicación.

ABSTRACT

The annual ProHuerta strategy (a national Argentinian programme destined to promote vegetable gardens and to grow own food) makes adjustments at the territorial level, based on experience and programmatic directives. In 2017, ICT were incorporated into a plan that included the online registration of seed delivery information, the on-site monitoring of an area identified as vulnerable and the collaborative monitoring through information sended by the gardener's WhatsApp. The results provide a characterization of the population on the programme in this area, on the autumn-winter campaign, a concrete modality of implementing the digital registry and geolocation of the vegetable gardens through accessible and free Google tools, and some reflections on about how to think and to work with the notion of vulnerability that characterizes the target population of ProHuerta.

Keywords: GIS, statistics, vulnerable population, family gardens, ICT, communication.

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro Regional Buenos Aires Norte, Estación Experimental Agropecuaria (EEA) San Pedro, Mitre 299, (2930), San Pedro. Correo electrónico: piola.mariana@inta.gov.ar

²Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro Regional Buenos Aires Norte, Estación Experimental Agropecuaria (EEA) San Pedro, Agencia de Extensión Rural (AER) San Pedro, Mitre 299, (2930), San Pedro. Correo electrónico: hansen.laura@inta.gov.ar

INTRODUCCIÓN

La evaluación, seguimiento y monitoreo de las actividades planificadas es uno de los componentes del programa ProHuerta¹ que cada territorio ajusta a sus particularidades. Este trabajo sistematiza la experiencia implementada en la Agencia de Extensión Rural de San Pedro en 2017 con el objetivo de dar cuenta del dispositivo construido para responder a los lineamientos del programa a nivel nacional y mejorar el proceso local.

En su realización convergen el conocimiento del territorio, la experiencia de entrega de semillas de años anteriores y la implementación de diversas tecnologías disponibles de la información y comunicación. Los resultados generados permiten visualizar rápidamente la distribución geográfica de huertas y granjas, caracterizar la población con la que trabaja el programa², planificar el monitoreo y analizar la labor con vistas a definir nuevas estrategias de trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

En la construcción metodológica convergen profesionales de distintas disciplinas, con el compromiso del registro y seguimiento de la información, la utilización de recursos informáticos para el registro de bases de datos, georeferenciación y comunicación, y experiencia etnográfica y de trayectoria vinculada al programa ProHuerta. En su implementación se tuvieron en cuenta los siguientes componentes:

1. registro digital de la entrega de semilla, realizado simultáneamente cuando se dispuso de conectividad a internet, y *a posteriori* en el caso de las entregas realizadas por referentes del programa,
2. geolocalización de las huertas en un mapa,
3. implementación de monitoreos a través de dos métodos: *in situ* en áreas de alta vulnerabilidad social y colaborativo vía WhatsApp,
4. concentración de la entrega de semilla en la Agencia de Extensión Rural en momentos puntuales previamente definidos junto con instancias de capacitación, mediante convocatoria abierta por medios de comunicación, redes sociales y mensaje de WhatsApp³ y otras entrega en barrios priorizados,

¹ProHuerta es un programa que responde a políticas públicas que promueven las prácticas productivas agroecológicas para el autoabastecimiento, la educación alimentaria, la promoción de ferias y mercados alternativos con una mirada inclusiva de las familias productoras (INTA, 2011).

²Según Nota CNTyE N° 534/2016. Fecha: 06/10/16 "El ProHuerta está dirigido a población en situación de vulnerabilidad social, familias productoras de zonas urbanas y rurales. También involucra a niños en escuelas de áreas socialmente críticas, priorizando aquellas con comedor escolar. Asimismo, y en consonancia con el PNSA, el programa privilegia como población objetivo a las familias con niños menores de 14 años, las mujeres embarazadas, discapacitados y los adultos mayores de 70 años que viven en condiciones socialmente desfavorables y presentan una situación de vulnerabilidad nutricional".

³Las bases de datos de teléfonos celulares para concretar el envío correspondieron a aquellas obtenidas en entregas realizadas en años anteriores y cuyo dato se tenía en forma digital.

5. visibilización a través de medios de comunicación y utilización de redes sociales de las instancias de las acciones del programa,
6. énfasis en la sensibilización acerca de la importancia de la producción propia de semilla como clave para la continuidad de la huerta, no dependiente de los insumos, a través de la realización de encuentros de intercambio y capacitación sobre la multiplicación.

Lo generado permitió analizar la temporada y definir ajustes para la siguiente, haciendo hincapié en los mapas para el seguimiento de la dinámica de huertas y granjas.

Incorporación de un formulario de carga de información al momento de la entrega de semillas

Se utilizó la tecnología ofrecida por Google para sus formularios⁴ mediante la carga *online* con el siguiente potencial:

- habilita el trabajo colaborativo, mediante acceso simultáneo, carga integrada de información, posibilidad de incorporar mejoras y deshacer cambios según los permisos de los usuarios,
- genera gráficos preliminares para sistematizar las respuestas en las preguntas cerradas,
- es compatible con otras tecnologías de la misma empresa como Google Maps,
- está en permanente desarrollo y con mejoras constantes que facilitan el proceso,
- es accesible y disponible de manera gratuita.

El formulario se construyó pensando en respuestas sencillas, con opciones abiertas y cerradas (figura 1). Tomando como base las planillas de registro de entrega de semilla, se sumaron campos para medir los aspectos priorizados por el programa y se definieron 19 en total.

Armado de mapas *online* para ubicar a los huerteros

Para esta etapa, se migró la hoja de cálculo de Google que registraba la información cargada en el formulario a una de Microsoft Excel. El objetivo fue facilitar el proceso de manipulación de la información para obtener la georeferenciación. Luego se importaron los datos en Google My Maps⁵, la mayoría de forma automática y otros con geolo-

⁴Se trata de una aplicación integrada de Google denominada Google Docs, Slides, Sheets, de uso gratuito y basado en la web para crear documentos en línea con la posibilidad de colaborar en grupo. La aplicación contiene una serie de funcionalidades simulando a un paquete de oficinas para procesador de textos, hoja de cálculo (conectada si se desea a un editor de formularios), otra para hacer presentaciones, entre otras.

⁵Si bien es una herramienta surgida pocos años después de la creación de Google Maps, desde 2014 hay una versión que permite el uso de capas personalizables con estilos uniformes y etiquetas con el nombre o la descripción. Contiene también una gran variedad de objetos que funcionan como puntos, como el punto de ciudad, de tren, de autobús, hospital o escuela, con parámetros

Figura 1. Fragmento del formulario utilizado.

calización individual para las huertas rurales. El procedimiento se desarrolla a modo de tutorial en el anexo 1 de este documento.

El Google My Maps permite generar distintos mapas y dentro de cada uno, capas de información (figura 2) que pueden superponerse y conocerse la trayectoria de cada familia. En 2017 se trabajó con una capa por temporada y los datos de monitoreo se cargaron en la ficha generada a partir de la entrega de insumos. También se agregó una capa con información social de los barrios.

Monitoreo *in situ* de algunas zonas elegidas por su alta vulnerabilidad social

Entre la campaña otoño-invierno y la primavera-verano se implementó un monitoreo a través de visitas a fin de conocer huertas logradas y además identificar las que pudieran ser complementadas con granja o frutales o con excedentes de producción para sumar a otros procesos en marcha de agricultura familiar.

Se hizo hincapié en indagar sobre la ocupación del jefe de hogar, destino de la producción (consumo y venta de excedentes), producción de semillas, diversificación (granja, frutales), diversidad de la huerta (especies sembradas). Además, se definió una valoración de la huerta en buena, regular y mala, como medio para identificar rápidamente las disponibles para ser visitadas ante pedido de las autoridades.

modificables. Se accede con un usuario de Google, y desde las opciones de Google Maps.

Entendiendo al monitoreo como un instrumento de gestión y de política que permite revisar en forma periódica los procesos, resultados e impactos (Di Virgilio y Solano, 2012), se optó por hacerlo por barrido (100% de familias visitadas) en dos zonas identificadas por su alta vulnerabilidad social, combinando el conocimiento sistematizado del territorio durante años de intervención, e información secundaria generada por la ONG Techo (2013). Así se eligieron las dos zonas señaladas en la figura 3.

La zona CIC quedó delimitada por las calles Mateo Sbert, J.B Cucit, Las Provincias y Dávila, comprendiendo los barrios San Francisco, San Miguel, parte de El Caserito y dos asentamientos precarios. Los barrios son de clase media baja y baja construidos a partir de diversos planes de vivienda social con casas de material, trazado de calles y cuentan con los servicios básicos de luz, agua, y el 30% de calles pavimentadas durante 2017, alumbrado público y recolección de residuos. El gas se provee envasado en garrafas y las excretas se eliminan en pozo negro. Los asentamientos, en cambio, se encuentran en una situación de precariedad social y habitacional (Techo, 2016). En las inmediaciones funciona una escuela primaria y un centro de Integración comunitaria (CIC) con servicios del área de salud y desarrollo social del municipio.

La zona definida como "Hermano Indio" está delimitada por las calles Mateo Sbert, Lavalle, Las Provincias y Gral. Pueyrredón. Comprende los barrios Hermano Indio, San Roque y un asentamiento precario denominado Las Cañitas. Los tres barrios que la integran son diferentes. Hermano Indio surge de la necesidad habitacional de familias que ocuparon predios que antes eran productivos. Por

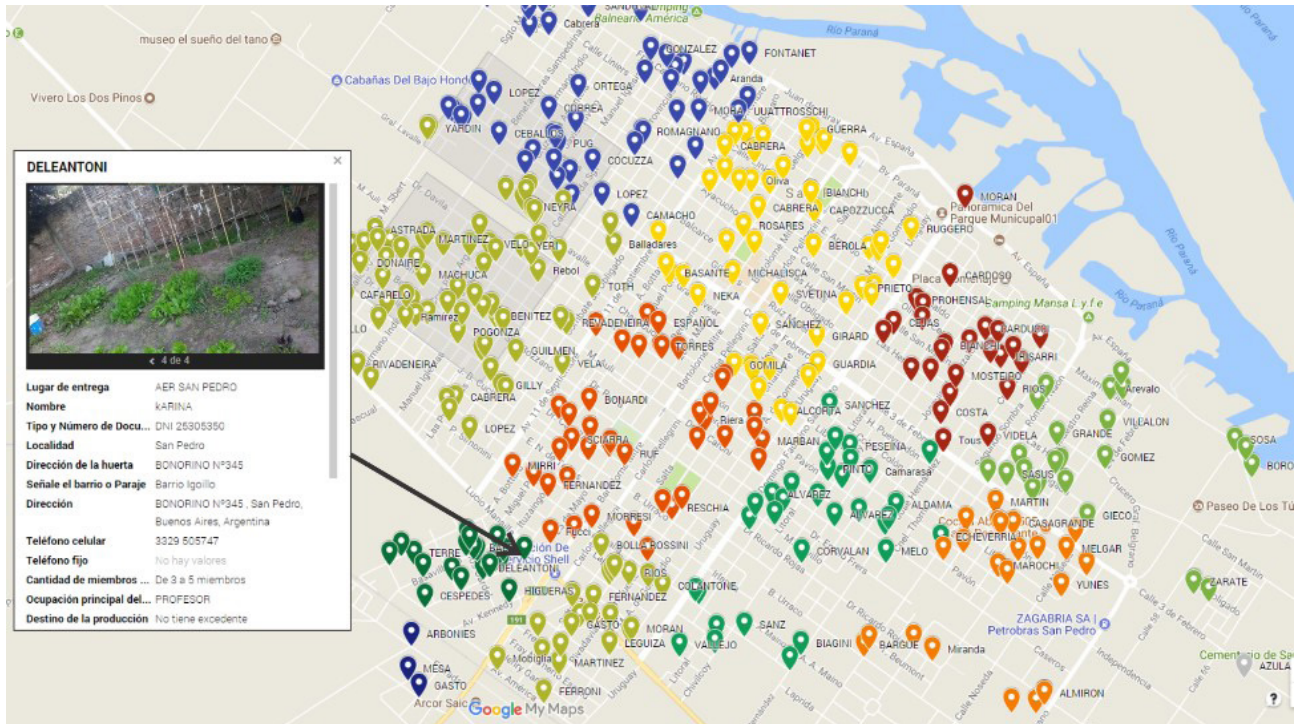


Figura 2. Captura de una de las capas del mapa con el despliegue de la tabla y los datos de ese huertero.

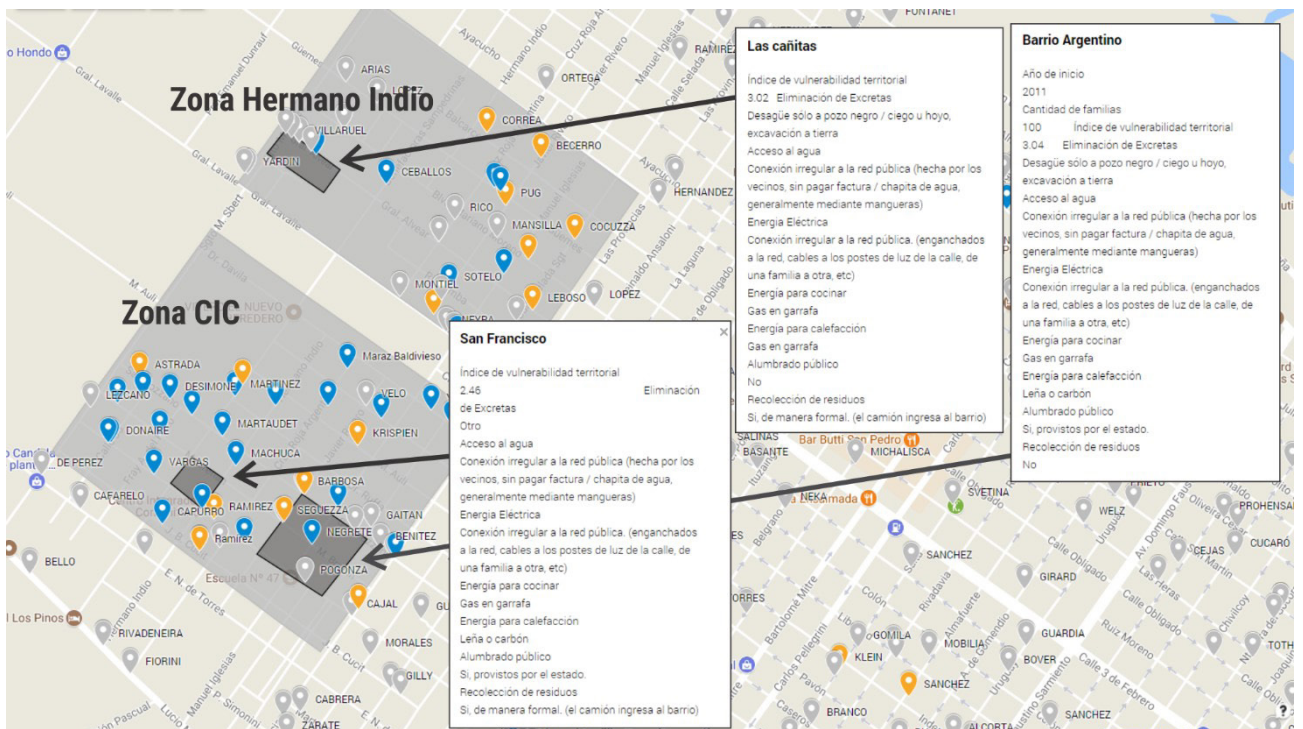


Figura 3. Zonas delimitadas para el monitoreo *in situ*, destacando los asentamientos con su caracterización: Centro Integrador Comunitario (CIC) y Hermano Indio.

años no contó con trazado de calles y las casas se comunicaban por pasajes o pasillos. Es un barrio conocido por situaciones de inseguridad. La situación de los servicios es

semejante, pero en 2017 se pavimentó el 55% del área. El barrio San Roque cuenta con servicios y casi la totalidad del trazado de calles está pavimentado. El asentamiento Las ca-

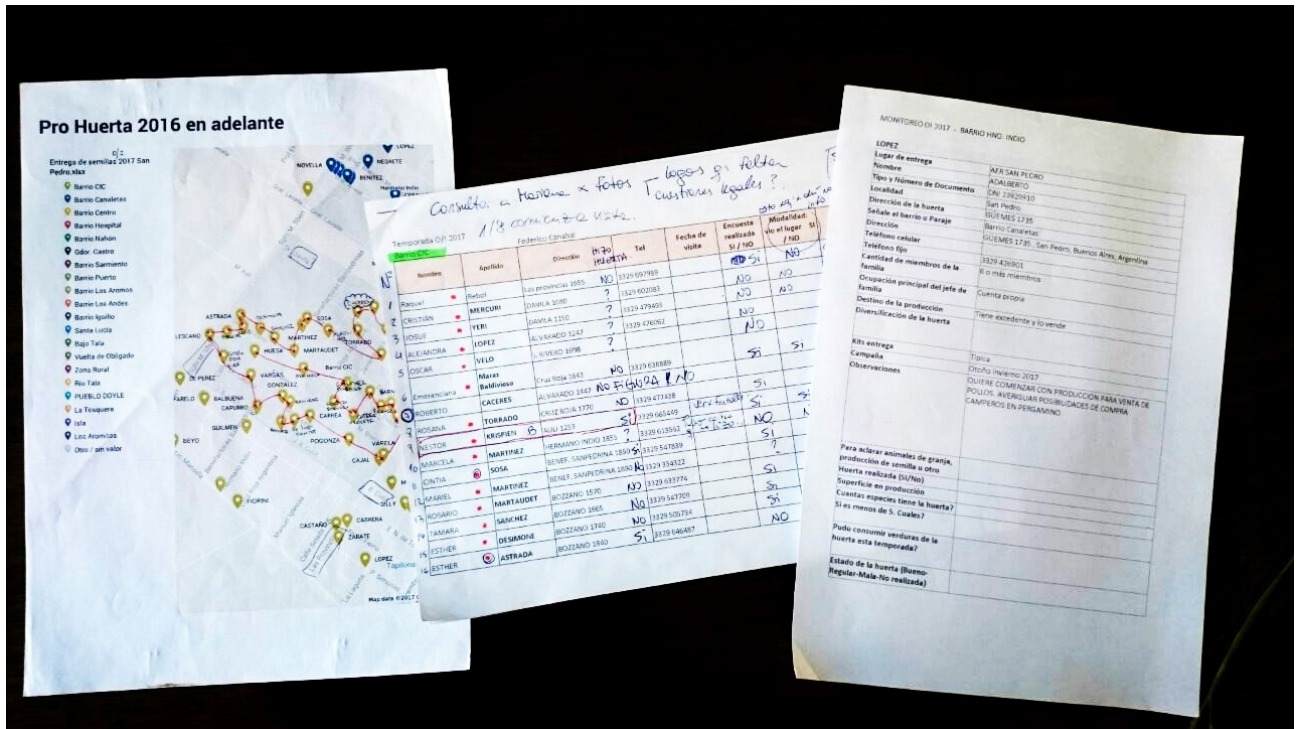


Figura 4. Materiales elaborados para el monitreador: mapa con sendero, hoja de ruta con detalles y ficha ampliatoria.

ñitas se caracteriza por contar con servicios de instalación irregular de luz y agua, gas en garrafa, sin alumbrado público aunque sí con recolección de residuos (Techos, 2013). En cada una de las zonificaciones había familias que recibieran insumos: 28 en Zona Hermano Indio y 45 en Zona CIC. Se esperaba que el monitoreo pudiera visitar al 100% de estas.

Las visitas se ordenaron en un sendero de recorrida y se entregaron tres materiales auxiliares (figura 4):

- Mapa impreso desde Google Maps con las familias a visitar marcadas y una propuesta de recorrido.
- Hoja de ruta con datos generales (nombre, apellido, dirección, teléfono, fecha de visita, verificación de encuesta realizada, si vio o no el lugar y observaciones).
- Ficha individual para completar cuando se concretaba en el encuentro con cada familia y algunas preguntas de interés acordadas.

Para el monitoreo se contrató una persona, elegida por el vínculo con la actividad agropecuaria, la facilidad para el uso de herramientas digitales y actitud proactiva. Previo al monitoreo se realizó una reunión de capacitación sobre la recorrida de las huertas, las entrevistas con la gente, el registro fotográfico y carga de información. El promotor fue identificado con indumentaria del programa y un carné con sus datos. También se enviaron SMS a los candidatos a ser visitados (filtrando de la base de datos de entrega de semillas a quienes vivían en la zona identificada), para notificarlos de que estaban involucrados en la actividad de monitoreo que estaba realizando el programa en el barrio.

Se hicieron dos reuniones de entrega de datos parciales para evaluar el proceso implementado, que se sumaron a contactos vía WhatsApp. La información fue cargada en los mapas, incluyendo las fotos registradas en las huertas.

Monitoreo colaborativo de las huertas, mediante utilización de plataforma para el envío de SMS (mensajes de texto) en combinación con WhatsApp

A fin de complementar el muestreo *in situ*, se ideó una técnica alternativa para recuperar y sistematizar los aportes de los propios huerteros sin visitarlos, en barrios que no habían sido priorizados en el muestreo. La técnica permitió además tener un registro de lo sucedido con las semillas, establecer un compromiso entre la recepción del kit y la devolución de información; y sentar el antecedente de la responsabilidad que supone ser parte del programa.

Para esta actividad, se utilizó la base de datos de las personas que retiraron semilla en la campaña otoño-invierno. Se contrató un paquete de mensajes de texto (SMS) con un proveedor que ofrece una plataforma para el envío y seguimiento (figura 5).

Se mandaron mensajes personalizados con el nombre de pila del destinatario para reforzar la cercanía (figura 6). La información en texto y fotos relevada fue sistematizada, y se incorporaron al mapa.

Grupo de WhatsApp

Se armó un grupo de WhatsApp con el objetivo de continuar el intercambio entre los huerteros interesados (figura

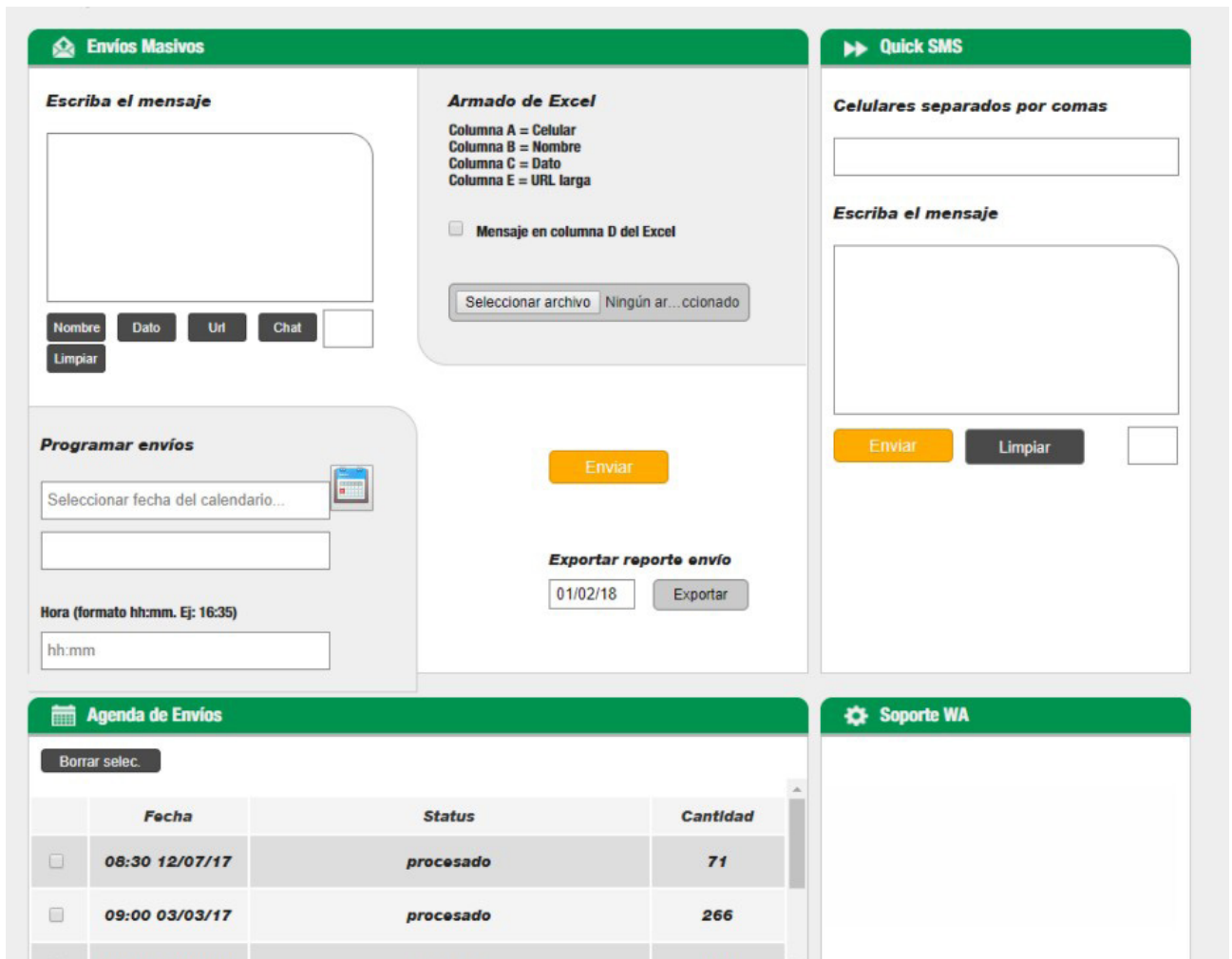


Figura 5. Captura de pantalla de la plataforma de envío de SMS.

7). Se los invitó a integrarse después de las capacitaciones de entrega de semilla y en otros contactos, y se generó un link para que se pudieran sumar que fue distribuido en distintos espacios (también por SMS), mediante la plataforma bitly.com (<http://bit.ly/gprohuerta>).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la exposición de los resultados de la experiencia, se hace foco en lo generado por el relevamiento de información de la campaña otoño-invierno (formulario cargado al momento de la entrega de semillas, mapas de las huertas y monitoreo posterior) y a continuación otro apartado enfocado en los resultados de la implementación de cada herramienta.

Caracterización de quienes recibieron semillas en la campaña otoño-invierno

En 2017 se entregaron entre las dos campañas 1959 colecciones de semillas en sus diferentes alternativas (urbana,

típica y suelta), ya sea en la Agencia de Extensión o a través de la red de promotores del programa para el partido. El 46% correspondió a la campaña otoño-invierno, cifra menor al promedio registrado en los últimos 5 años, según tabla 1.

Diversificación y producción de semillas

El 53% de las familias diversifican la huerta con otras producciones, los más importantes son: frutales (22,5%) y animales de granja (22%). Dentro de los frutales, 182 fami-

Hola #NOMBRE#! Queremos saber cómo te fue con las semillas que retiraste para la huerta. Nos ayudás? Podés contarnos brevemente con mensajito o audio, y sumar una foto. Lo podés enviar por Whatsapp al +54-11-68050869 o en este grupo. Gracias!

Figura 6. Ejemplo del mensaje enviado por SMS para convocar al monitoreo colaborativo.

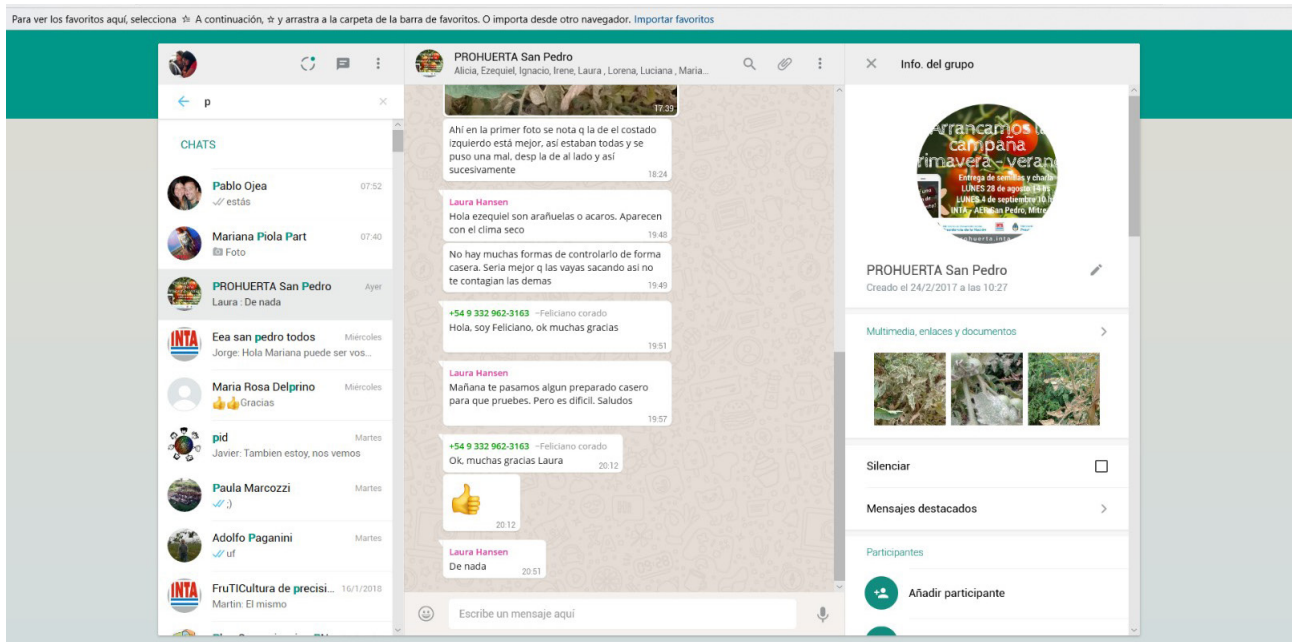


Figura 7. Captura de pantalla del grupo en su visualización web.

lias informaron que cuentan con plantas cítricas, 146 con frutales de carozo y 26 con una variedad que incluye nísperos, paltos, perales, manzanos y algunos frutos rojos. Esta cifra se incrementó en la siguiente campaña, a partir de tres entregas de frutales a familias que comercializan parte de la producción vinculadas a frutos de la Tierra y el Río (10), pobladores del Paraje Ingeniero Moneta (10) en continuidad con la actividad “Encuentro Parajes”⁶ organizado por la mesa de agricultura familiar, y quienes teniendo huerta, participan asiduamente del programa en la Zona CIC (16).

En relación con la diversificación con animales de granja, 178 familias cuentan con gallinas ponedoras, 13 con pollos y 11 con otros animales de granja (cerdos, conejos, patos, gansos). Este sector fue apoyado con una entrega de pollitos a 39 familias ya vinculadas al programa, de las cuales 25 ya habían recibido en ocasiones anteriores, y 5 tenían, pero no entregados por el programa. En todos los casos tenían experiencia previa, vendían excedente o podrían llegar a hacerlo, pero sin priorización por barrio. En años anteriores la entrega fue más dispersa, priorizando familias que nunca habían recibido.

El 15% de los huerteros que se registraron en la Agencia de Extensión producen semillas, en el resto de los lugares

⁶Se trató encuentros que se concretaron en las escuelas de distintos parajes del partido de San Pedro, entendiendo de que se trata de puntos encuentro de las familias que aún viven en la zona rural y con el objetivo de llegar al territorio y mantener contacto directo con productores con los que no se tiene un vínculo muy fluido o no están habituados a concurrir al INTA o a la SAF (Piola, 2017).

	Otoño Invierno	Primavera Verano	Total
2013	1079	1010	2089
2014	888	1100	1988
2015	1040	1110	2150
2016	920	883	1803
2017	918	1041	1959
Promedio	969 (54,6%)	806,8 (45,4%)	

Tabla 1. Porcentajes de distribución de semilla entre las campañas.

de entrega el dato no se registró y se suma el año siguiente a la planilla.

Producción y venta de excedentes

El 92% de las familias no produce excedentes, y de los que lo tienen –66 familias–, solo el 30% lo vende. El resto lo regala o intercambia. La experiencia local da cuenta de que la noción de “excedente” no es común en los huerteros. En las indagaciones que realizan los técnicos, surge que en general las familias no visualizan a la producción de verduras y huevos como una fuente de ingresos monetaria, teniendo una expectativa laboral de empleo en relación de dependencia. Sin embargo, la huerta cobra centralidad como complemento importante en la economía familiar cuando se cuenta con tiempo y espacio.

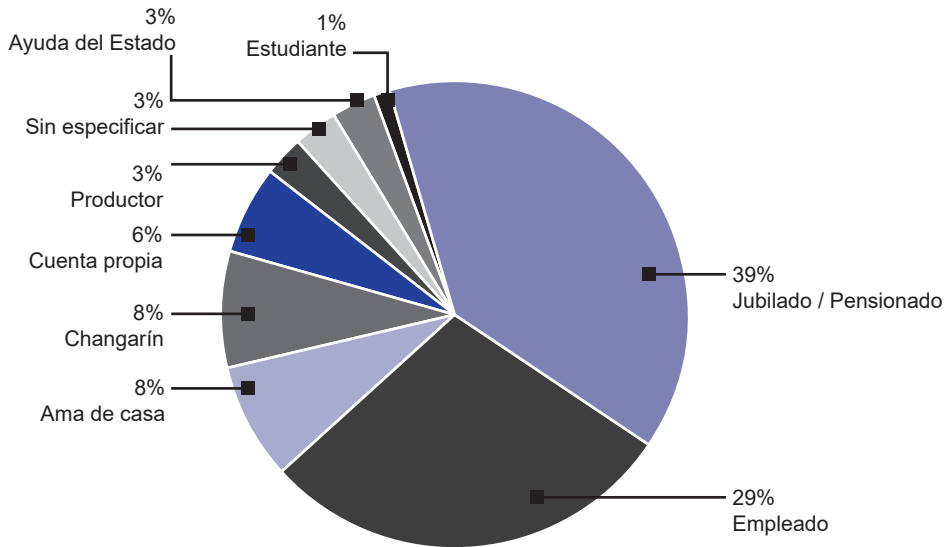


Figura 8. Distribución de la entrega de semilla por ocupación del jefe de hogar.

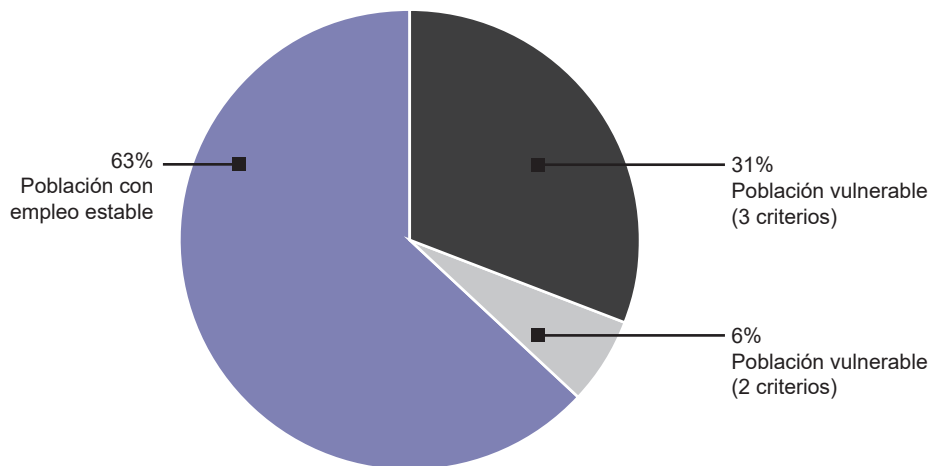


Figura 9. Caracterización de las familias, identificando aquellos que combinan 2 o 3 de las variables propuestas (barrio, cantidad de miembros de la familia, actividad del jefe de familia).

Población objetivo

Para la caracterización de la población objetivo sobre los parámetros registrados, surge la necesidad de esclarecer la definición de vulnerabilidad y los indicadores para medirla que puedan relevar de manera sencilla los técnicos y los promotores del programa. Este trabajo recupera los resultados de las propuestas para su objetivación.

A partir de la información disponible y los lineamientos del programa, se seleccionaron las variables relevadas en

la entrevista inicial que pudiera aportar datos para caracterizar a las familias:

- barrios con población de menores recursos. Se establecieron nueve: Isla, La Tosquera, Matadero, Barrio Los Aromos, Barrio Igoillo, Barrio Puerto, Barrio Canaletas, Zona Rural, Barrio CIC,
- familias numerosas, considerando 3 o más integrantes (rangos 3 a 5, y más de 6),

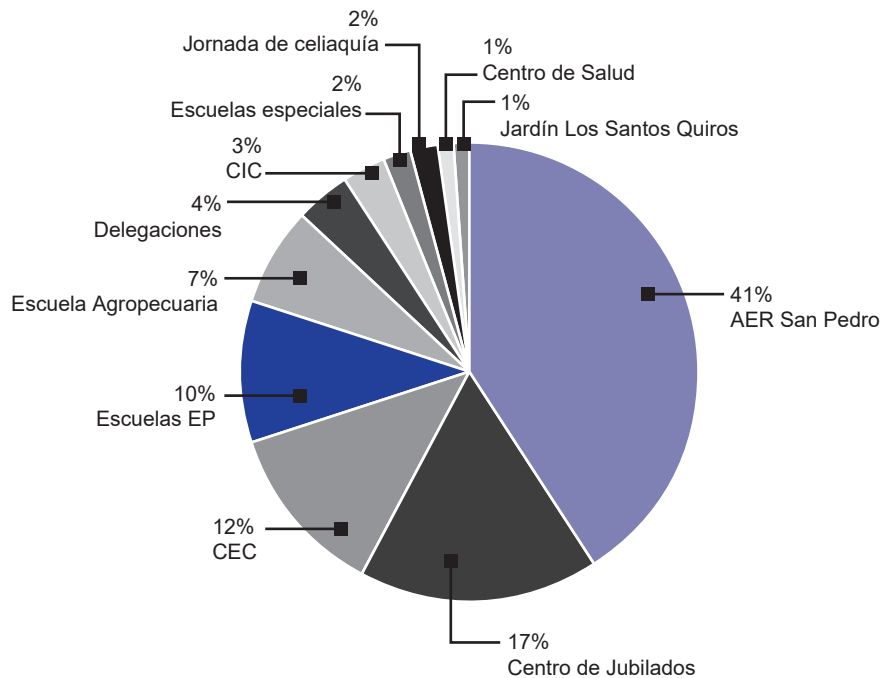


Figura 10. Cantidad de kits de semillas otoño-invierno entregados, según lugar de entrega.

- ocupaciones de menores ingresos, con ingresos esporádicos o sin ingresos: Jubilado/Pensionado, Changanín, Ama de casa, Productor, Sin especificar/otros, Ayuda del Estado/desocupado, Estudiante.

Según las variables mencionadas, se constató que 66% de las familias que retiraron semillas provienen de barrios con mayor riesgo de vulnerabilidad social, que el 65% cuenta con más de 3 integrantes en la familia (el 15% más de 6) y el 62% tiene ocupaciones de bajos ingresos o sin ingresos (figura 8).

Ningún criterio aisladamente determina la vulnerabilidad de la familia, por lo que se cruzaron las tres variables y se volvieron a analizar los datos. De esta forma el 37% de las familias alcanzadas por el programa cuentan con dos o tres de los criterios establecidos en esta sistematización (figura 9).

El otro análisis realizado se centra en definir la importancia de cada uno de los lugares de entrega y relacionarlos con la población objetivo del programa. El 41% de los kits se entregaron en la Agencia de Extensión Rural del INTA San Pedro, el 17% en Centros de Jubilados, la misma cifra para las Escuelas (integrando primarias y la Escuela Agropecuaria) y el 12% en Centros de educación Complementaria (figura 10).

Si se analiza en qué barrio o zona del partido viven las familias que se acercan a buscar semillas a la Agencia de Extensión Rural, se observa que solo el 13% viven en el Barrio del Centro, el 60% pertenece a zonas con alto riesgo de vulnerabilidad social (Isla, zona rural, Barrios sociales y/o periféricos de bajos recursos) y el resto a otros barrios de condición social intermedia. A partir de la visualización

del mapa, se puede observar la dispersión de la ubicación de las huertas (Barrio del huertero) en relación con cada uno de los lugares de entrega (figura 11).

Del análisis del mapa se desprende que hay instituciones que entregan semillas a familias de los barrios cercanos, como el Jardín Santos Quirós, donde las familias están principalmente radicadas en los barrios Hermano Indio y CIC. En el mismo sentido, la entrega en el CIC se concreta a vecinos cercanos de los barrios San Francisco, San Miguel, y el Caserito. En el caso de las escuelas rurales y de parajes se observa una correlación de la ubicación de los huerteros y el del lugar de entrega, no así en las escuelas del ejido urbano, periurbano, y la escuela agrotécnica, donde los beneficiarios se encuentran más dispersos.

En los centros de jubilados, tanto los barriales como en la sede del Centro, entregan semillas a huerteros de otros barrios distintos a donde se ubican, a excepción de las localidades (Río Tala, Gobernador Castro y Santa Lucía).

Georreferenciación de las huertas

Un trabajo de INTA Anguil para geolocalizar la movilidad de huertas en el programa ProHuerta en la provincia de La Pampa concluye: “El uso de herramientas de SIG permite el monitoreo y visualización de la evolución de los indicadores del proyecto de una manera rápida y sencilla” (Fuentes *et al.*, 2016). Durante años los trabajos con georreferenciación 12, cuya captura señala por colores la distribución por grandes barrios de las huertas según la entrega de semilla para la campaña otoño-invierno.

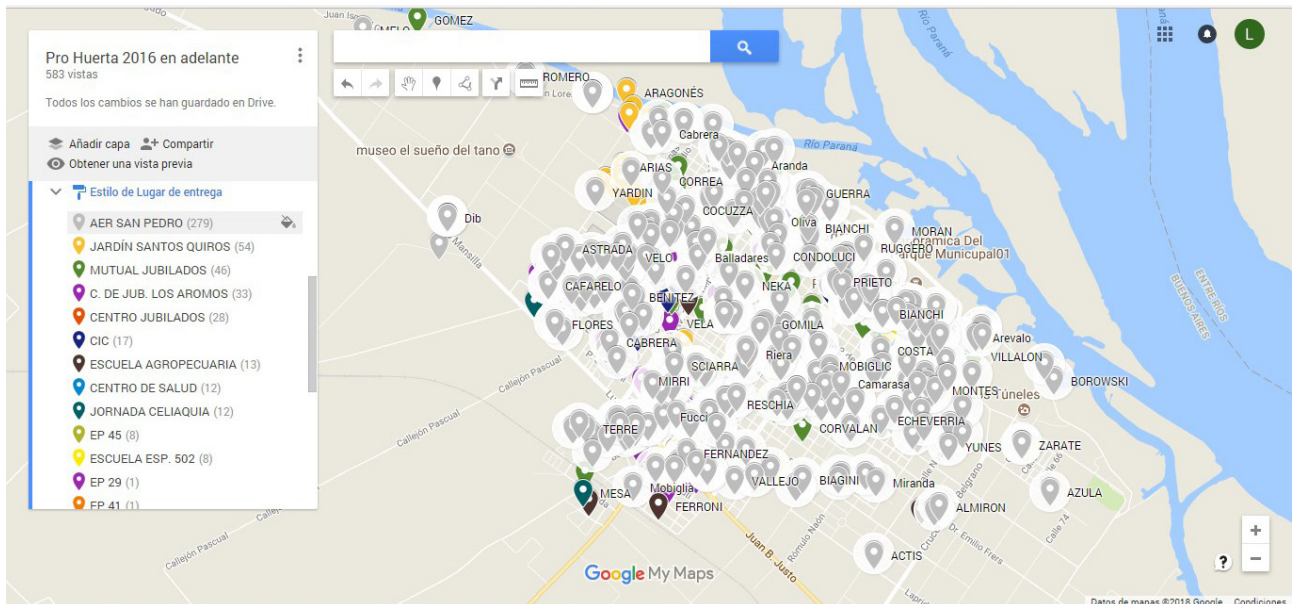


Figura 11. Dispersión de la entrega realizada en la AER San Pedro para el partido.

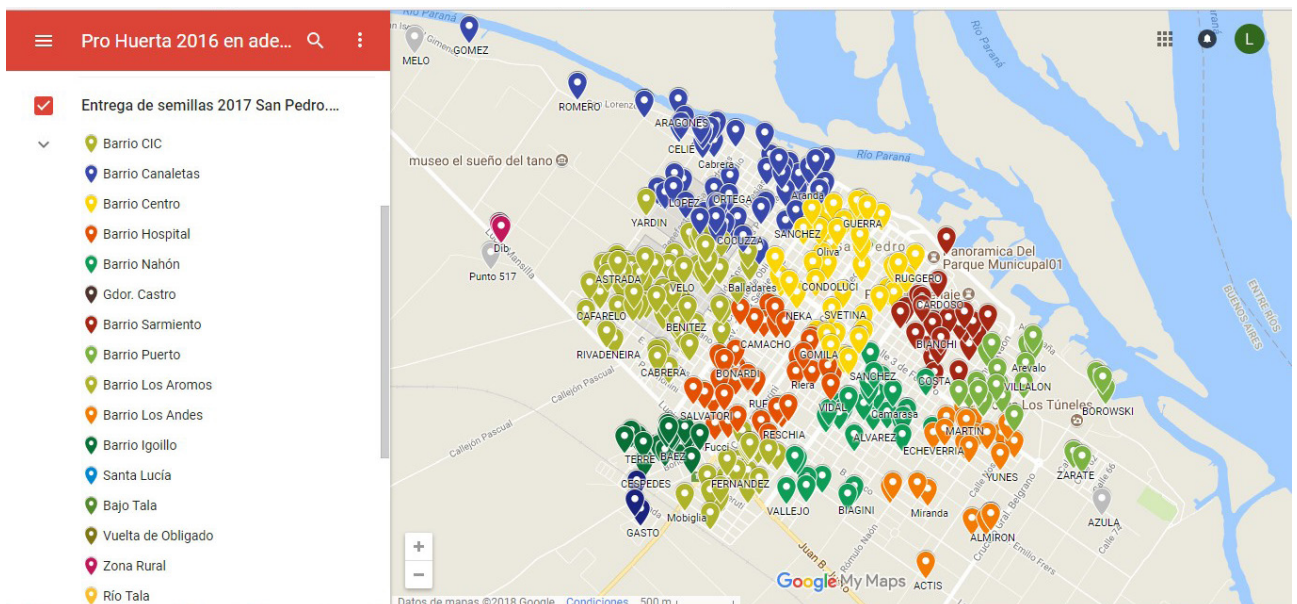


Figura 12. Entrega de semillas según barrio donde se realiza en otoño-invierno 2017.

Cuando se selecciona diversificación, la plataforma devuelve gran dispersión de colores (figura 13) por sobre aquellas huertas que no están diversificadas (puntos grises). En este caso se distingue la diferencia entre devolver el dato total (por ejemplo, el número de huertas con cítricos) y estos expresados de forma individual y ubicados en el mapa.

La herramienta facilita los procesos de monitoreo cuando la variable geográfica es relevante, como en el caso de la figura 14, donde se sectorizan los barrios identificados para el monitoreo, se marcan las huertas para relevar, y se señala aquellas confirmadas de la que no. Cuenta además con la opción de ampliar la informa-

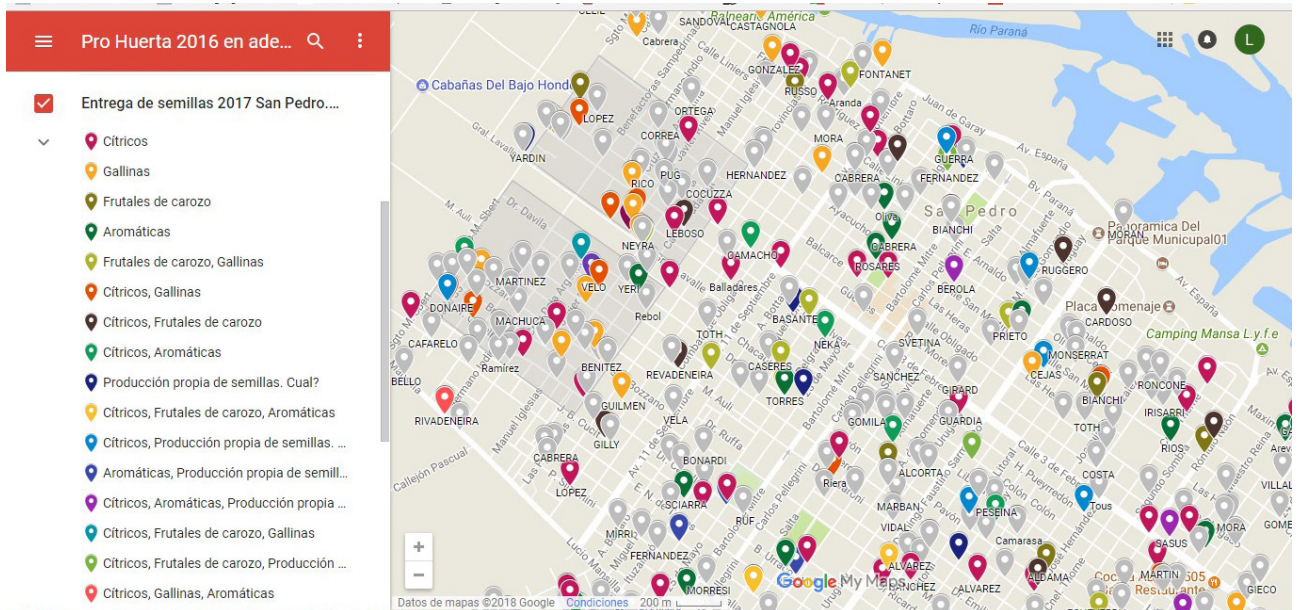


Figura 13. Diversificación de las huertas según datos relevados en la entrega de semilla otoño-invierno 2017.

ción posicionándose en cada huerta y desplegando los datos de registro, fotografías de la huerta, etc. Estos resultados son apenas una selección de las posibilidades que permite la herramienta.

Monitoreo de las huertas

El monitoreo es componente central en la labor del técnico de Prohuerta para conocer el destino de los insumos entregados, los problemas que se presentan a los huerteros y como herramienta fundamental para la planificación. En el caso de la Agencia de San Pedro (Buenos Aires, Argentina), se han utilizado diferentes criterios para el monitoreo a través de los años, cada vez respondiendo a las principales preocupaciones del programa. Algunos de ellos fueron: huertas que se realizan por primera vez o declaran algo especial para consumo, al azar siguiendo la notoriedad de algún indicador al momento de entrevista (porque mencionan el éxito de las experiencias vigentes, o que señalan las dificultades para llevar adelante los cultivos), huerteros elegidos al azar de las planillas de los promotores, zonas priorizadas por una variable, o la visita a cada participante de la actividad ya referida de Encuentro Parajes.

Sin embargo, tal como se mencionó en la metodología, en 2017 se implementaron un monitoreo *in situ* y otro experimental que buscó retomar el contacto generado a partir de la situación de entrevista, utilizando la tecnología de los *smartphones*.

Sobre el monitoreo *in situ* de las huertas mediante promotor capacitado

En el trabajo de campo efectivo, el monitreador modificó la metodología propuesta. Los tiempos no se cumplieron,

demorándose las visitas a las huertas y apenas se concretaron 52 datos sobre los 72 casos identificados. Luego de una primera recorrida presencial y con poco nivel de concreción de las entrevistas, se decidió hacer un contacto inicial con el huertero por llamada telefónica o WhatsApp. Se pautaron fechas para visita si las respuestas eran positivas y no se visitaron en los casos que no se había realizado huerta. Evidentemente, la modalidad de monitoreo por visita presenta dificultades, es difícil concretar el encuentro presencial y si se da, obtener todas las respuestas o contacto visual con la huerta.

En este monitoreo se identificaron diversas situaciones: familias sin datos (no se pudo contactar vía telefónica, tampoco se encontró a alguien en su domicilio y no se repitió la visita); familias donde se concretaba el contacto telefónico, pero que respondió que no habían hecho huerta; familias que telefónicamente informaban que habían hecho la huerta, pero que al momento de la visita no se los encontraban y no se los volvió a visitar; y los casos positivos donde se concretaba la visita, se encontraba una huerta en funcionamiento⁷ y se completaba la encuesta. La mayor concreción de entrevistas y de huertas realizadas fue en la zona de Hermano Indio.

En la zona Hermano Indio, se contactaron 21 de los 27 casos identificados; 8 manifestaron no haber realizado y los 13 restantes sí haber hecho una siembra, con información disímil que concretó solo 7 entrevistas completas.

⁷Según la definición del Workflow de ProHuerta, “existe una huerta en funcionamiento allí donde se sembró el kit de semillas entregado y hay una persona responsable del mantenimiento con expectativa de producción para el autoconsumo”.

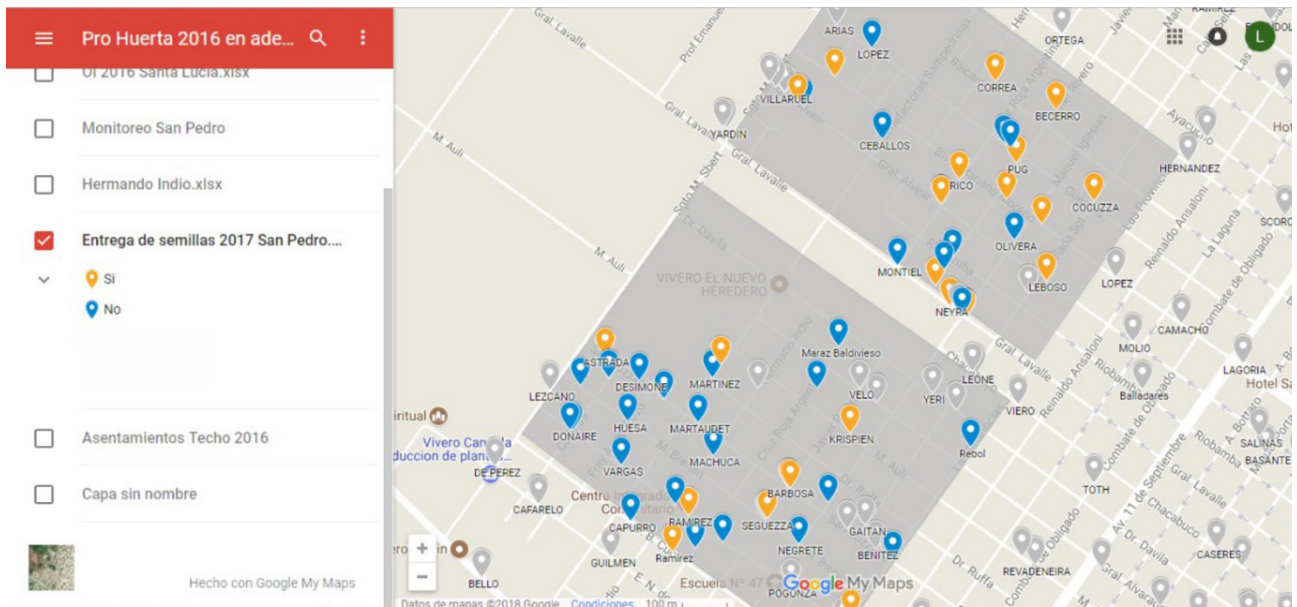


Figura 14. Huertas incluidas en el monitoreo *in situ*, donde se concretaron contactos (color naranja) y donde no (azul).

Para la zona del CIC, se contactaron 31 de los 45 casos identificados, de los cuales 22 manifestaron no haber realizado la huerta y 9 sí. Las entrevistas constatadas *in situ* y respuestas completas de las entrevistas fueron 3.

La mayoría de las huertas realizadas son de autoconsumo y la producción es discontinua debido al tiempo restringido que posee el huertero para dedicar a esta actividad, aunque algunos las vienen realizando durante años. Como resultado del monitoreo y según la escala de valor propuesta por el programa, se han encontrado 6 huertas regulares, 3 buenas y 1 mala. A modo de ejemplo, en la figura 15 se identifican fotos de una de las huertas visitadas en este monitoreo.

Sobre el monitoreo colaborativo

Se enviaron 371 mensajes, correspondientes a los números telefónicos disponibles para hacerlo (excluyendo las huertas que serían monitoreadas *in situ*). Se obtuvieron 50 respuestas por SMS y/o ampliación por WhatsApp dando cuenta del resultado, se armaron 18 galerías de fotos con el material enviado que fueron volcadas en los mapas (figura 16).

En la tabla 2 se visualiza una sistematización del contenido de los mensajes enviados por los huerteros a través del tipo de respuestas. Algunos fueron de una oración, y otros fueron más largos, llegando alcanzar testimonios de 5 a 10 minutos enviados por mensaje de audio fragmentados. En términos generales se destaca que quienes responden lo hacen para destacar conformidad con el proceso, aunque también hubo algunos (8) que reconocieron que no hicieron huerta, aludiendo a problemas de salud, y mudanzas.

Sobre el tipo de hortalizas que producen se señaló gran diversidad, con preponderancia de las hortalizas de hojas: 12 acelga, 7 tomate y lechuga, 6 perejil, 5 repollo y el resto describió otras especies como berenjena, cherry, zanahoria, porotos, arvejas, espinaca, cebolla, caléndula, rabanitos, cebolleta, pimiento, habas y zapallitos.

Sobre la metodología utilizada

Sobre la incorporación de un formulario de carga de información al momento de la entrega de semillas

Como se menciona anteriormente, el 41% del total de las entregas realizadas en la campaña otoño-invierno fueron en la Agencia de Extensión Rural San Pedro, y ese porcentaje corresponde también a la carga simultánea de las planillas. El resto se concretó posteriormente a partir de las planillas de los promotores, aunque hay datos que no pudieron incluirse en el formulario porque la planilla en papel solo releva granja y frutales sin detalles.

Para la campaña otoño-invierno 2018, teniendo en cuenta las conclusiones de este trabajo, el formulario fue ajustado, a fin de detallar la información técnica y social para relevar y mejorar el registro de datos para la elaboración de los mapas. En el anexo 2 se incluye el nuevo formulario.

Sobre el grupo de WhatsApp

Los participantes lo utilizan para hacer consultas sobre los problemas que se les presentan, principalmente en torno a problemas sanitarios, comparten satisfacciones de la huerta, y se han realizado consultas sobre lugares de venta



Figura 15. Fotos tomadas por el monitoreador en una de las huertas.

de plantines y pollitos. Se trata de un grupo donde los participantes no se conocen *a priori* y algunos no están dispuestos a la alta tasa de participación algunos días, por lo cual salen. Sin embargo, en el inicio de la campaña 2018 el grupo ha sumado numerosos integrantes y se han promovido varios intercambios, incluyendo aportes de huerteros a los compañeros del espacio. En general se espera que la respuesta la realice uno de los técnicos de INTA.

CONCLUSIONES, APRENDIZAJES Y DESAFÍOS

Caracterización de la población de Prohuerta

Aunque la condición de vulnerabilidad puede convocar a un acuerdo implícito que reconoce una situación de riesgo de los hogares de sufrir un deterioro en sus condiciones de vida ante cambios en las condiciones del entorno (Labrunée y Gallo, 2005), a la hora de transformar esa noción en un indicador que permita concretar la entrega de semillas en cada unidad de ProHuerta plantea numerosos interrogantes. Este trabajo fue motorizado por la necesidad de esclarecer si con la labor realizada se está alcanzando la población objetivo, el grado de la transformación lograda y la necesidad de sistematizar la experiencia.

Siguiendo Labrunée y Gallo (Ibidem:139), son marcas de vulnerabilidad: los bajos ingresos, la condición de precarización, y el trabajo informal; información que no siempre es posible constatar en situación de entrevista para la entrega de semilla, además de inoportuna e invasiva. También aportan los modos en que se materializan los procesos de exclusión que el programa ya estaba relevando, como los miembros de la familia y el lugar geográfico donde se encuentra. La solución operativa que encontró este trabajo para poder caracterizar la vulnerabilidad como fenómeno multidimensional en movimiento, es el de la coexistencia de al menos dos de las variables mencionadas, así como la especificación de la condición laboral.

Del análisis de los lugares de entrega surge que se acercan huerteros de distintos lugares del partido a la Agencia de Extensión Rural de San Pedro, y sus características no están relacionadas con su condición social ni a la cercanía de residencia. También hay instituciones como los centros de jubilados, Jardín Santos Quirós, el CIC y las escuelas rurales que entregan casi exclusivamente a la población objetivo del programa. Según esto, se considera valioso continuar con la estrategia planteada antes del análisis de los datos.

Esta sistematización identifica el plus que supone el dispositivo metodológico implementado, aportando información que permite que la labor del técnico de Prohuerta pueda centrarse en las tareas sustantivas del programa y evitando el desgaste que supone excluir a quien no puede verificar el cumplimiento de esa condición. Recupera la información que se genera para una utilización inmediata, y permite otro análisis en el trabajo local que aporta a la sistematización cotidiana de la experiencia.

Formulario *online*, mapas dinámicos, y un esfuerzo para sistematizar a tiempo

Para que este dispositivo metodológico pueda funcionar es preciso cumplir con los pasos necesarios (carga y monitoreo) en el tiempo que hay entre una campaña y otra. El desfase en la carga y monitoreo impide cumplir con los objetivos propuestos. El monitoreo *in situ* de huertas debe cumplirse en un tiempo acotado y con suficiente antelación para analizar, redefinir estrategia y programar la siguiente. En ese sentido, es preciso optimizar la recuperación de la información producida por los promotores e incluso explorar la posibilidad que puedan realizar la carga *online*.

La utilización de mapas *online* permite la actualización permanentemente y ajustar la salida visual según el dato buscado, con utilizaciones aún no exploradas. Trabajos como los utilizados para la identificación de sectores vulnerables realizados por la ONG Techo –de utilidad para otras



Figura 16. Collage de algunas de las fotos enviadas por los propios huerteros para el monitoreo colaborativo.

Contenido general de la respuesta	Cantidad de respuestas
descripción positiva	21
descripción con pros y contras	10
no hizo huerta	8
éxito y consumo	5
acusa recibo	3
descripción	1
éxito y queja	1
dificultades	1

Tabla 2. Contenido sistematizado de las respuestas al monitoreo colaborativo vía WhatsApp.

regiones del país—, y cuya información se disponibiliza *online*, dan cuenta de la diferencia entre una imagen estática de un mapa, y la posibilidad de interactuar con los mapas.

En cuanto a la utilización de los *smartphones*, el SMS es una tecnología cada vez menos utilizada en relación con

otras como el WhatsApp, seguramente vinculado al incremento registrado en Argentina en el uso de la telefonía móvil inteligente (Kantar IBOPE Media, 2017). El WhatsApp tiene una utilización creciente que habilitará nuevos trabajos sobre los cambios que supone en la labor de extensión y transforma al *smartphone* como una herramienta fundamental para el técnico de Prohuerta.

La utilización de un formulario *online* aún genera dificultades y resistencias frente a la versión en papel. Sin embargo, la instrumentación de 2017 fue altamente valorada por los involucrados porque la información empieza a generar estadísticas desde el momento en que se completa, disminuye la dificultad de interpretación de la letra manuscrita, y unifica las nomenclaturas.

La implementación de este dispositivo metodológico supuso un trabajo colaborativo e interdisciplinario que aprovechó herramientas disponibles gratuitamente y experiencia en el uso de esta. Surgieron nuevos desafíos que con esta tecnología actualmente no se pueden hacer, como la recuperación de información que no cambia tras las campañas, como nombre, apellido y DNI, que se justificarían

en el escalamiento del proyecto a nivel regional o nacional. Mientras tanto, la información cargada sirve para ser importada a esos nuevos sistemas.

La experiencia de este análisis permite definir nuevas estrategias de análisis para otras líneas de trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A Moira Galeotti y Danila Ibern, quienes completaron gran parte de los datos de carga, ya sea tras una entrevista personal con los beneficiarios del programa o posteriormente a partir de las planillas de los promotores. También a quienes colaboran con la entrega de semillas o el registro: Fernando López Serrano, Yanina Paggi, Norberto Angel y Lorena Peña.

A cada uno de los promotores de ProHuerta que entregan semilla desde las distintas instituciones desde las que les toca.

BIBLIOGRAFÍA

DI VIRGILIO, M.; SOLANO, R. 2012. Monitoreo y evaluación de políticas, programas y proyectos sociales. 1.ª ed. Fundación CIPPEC. Buenos Aires. (Disponible: <https://www.cippec.org/wp-content/uploads/2017/03/1415.pdf> verificado: 08 de marzo de 2018).

INTA, 2011. Prohuerta. (Disponible: <https://inta.gob.ar/documentos/prohuerta> verificado: 08 de marzo de 2018).

KANTAR IBOPE MEDIA. 2017. TGI: Ola TGI Net Año 2016. Buenos Aires, Argentina.

FUENTES, M.E.; BELLINI SAIBENE, Y.N; CALDERA, J.M. 2016. Monitoreo de indicadores del programa ProHuerta en el área del caldenal y oeste árido de la provincia de La Pampa. 3.ª jornadas de Tecnología de información geográfica del Sur Argentino. (Disponible: <https://inta.gob.ar/documentos/monitoreo-de-indicadores-del-programa-prohuerta-en-el-area-del-caldenal-y-oeste-arido-de-la-provincia-de-la-pampa> verificado: 08 de marzo de 2018).

LABRUNÉE, M.E.; GALLO, M.E. 2005. Vulnerabilidad social: el camino hacia la exclusión. En LANARI, M.E. (Ed.). Trabajo decente: diagnóstico y aportes para la medición del mercado laboral local. Mar del Plata 1996-2002, 133-154 pp. Mar del Plata: Suárez. (Disponible: <http://nulan.mdp.edu.ar/716/1/01207f.pdf> verificado: 08 de marzo de 2018).

PIOLA, M. 2017. Recorriendo los parajes de San Pedro. (Disponible: <https://inta.gob.ar/noticias/recorriendo-los-parajes-de-san-pedro> verificado: 08 de marzo de 2018).

TECHO. 2013. Relevamiento de asentamientos informales 2013. Construcción colectiva de la información. Buenos Aires, Argentina. (Disponible: https://issuu.com/techoargentina/docs/relevamientos_de_asentamientos_2013 verificado: 08 de marzo de 2018).

TECHOS. 2016. Relevamiento de asentamientos informales. Mapa online interactivo. (Disponible: http://relevamiento.techo.org.ar/?latlng=-33.67769346595803,-59.682025909423835&z=16&l=mapa&f=2&y=r2016&chart=0&table=0&details=0&detailsTab=0&nid=te_003028 verificado: 08 de marzo de 2018).

ANEXO 1. Tutorial base para georeferenciar las huertas en My Maps

Para la primera etapa del trabajo se descargará como archivo Microsoft Excel la Hoja de cálculo localizada en el *Drive* de Google Docs, Slides, Sheets (figura 17), que corresponde a la información generada por el formulario de la entrega de semilla. Elegir una carpeta fácilmente localizable y descargar.

Paso 1. Sobre la hoja de cálculo en Microsoft Excel

1.a. Homogeneizar los nombres de las calles en las direcciones, siguiendo el que aparece en los mapas de Google. Cambiarlos cuando sean necesarios. Ejemplo: aunque sea común llamar a la calle principal como "Mitre", si en Google Maps aparece como "Bartolomé Mitre", reemplazar en todos los casos. Se pueden usar fórmulas para simplificar el proceso.

1.b. Agregar una columna cuyo encabezado sea "Georreferenciación" (u otro nombre que elijan) y luego pegar en todas las celdas la fórmula (figura 18) que permitirá escribir la fórmula completa de la dirección para georreferenciar

Ejemplo: =F178&", "&E178&", Buenos Aires, Argentina"

En la celda de dirección solo colocar, calle y número, sin observaciones. El dato de la celda debe mostrarse así: Anibal de Antón 2040, San Pedro, Buenos Aires, Argentina

Importante:

- Si en el mismo formulario se cargan las dos temporadas, es conveniente ordenar los datos por separado en dos planillas de Excel y subirlos al mapa como dos capas distintas que se puedan superponer.
- En el caso de las huertas/granjas rurales, solo con las indicaciones de cómo se llega no es suficiente para identificarlas, se sugiere ubicarlas primero en el mapa, copiar las coordenadas y pegarlas en la columna "georreferenciación".
- Tener en cuenta que todos los datos de la planilla se cargarán en el mapa, por lo tanto, se sugiere eliminar las columnas cuya información no es de interés antes de subir los datos al mapa.
- La hoja de Microsoft Excel debe contener una sola hoja para que el Google My Maps la reconozca.

Paso 2. Sobre el mapa en Google

- 1.a. Ingresar a Google maps logueado con un usuario Gmail. Ir a → Tus sitios → Mapas → Crear Mapa (figura 19).
- 1.b. Colocar nombre al mapa, haciendo doble click en Mapa sin nombre, editar el nombre y descripción del mapa, por ejemplo: Huertas PV 2017 San Pedro (figura 20).
- 1.c. Luego ir a → Importar → Seleccionar archivo, y buscar el archivo en Excel que nos interesa mapear (figura 21).
- 1.d. Seleccionar la columna que nos permita identificar las marcas de posición en este caso, elegir Georeferenciación y tildar.
- 1.e. Seleccionar una columna para utilizar como título para los marcadores, puede ser Apellido.

Paso 3. Sobre las huertas rurales y los errores de carga

La carga de huertas urbanas y/o periurbanas, donde el trazado de calles es claro y hay numeración, es sencilla. Si se procedió correctamente en el Paso 1, 1.a., esto se hará automáticamente. Pero cuando figura como "Calle X Sin número", hay apenas una referencia (ej.: entre calles Mitre y Pellegrini, a una cuadra de la escuela) o es una huerta rural y solo figura el "Cuartel" o "Callejón", el sistema no cuenta con información suficiente para realizar la georeferenciación. En ese caso hay que recurrir a posicionar las huertas en forma manual. Para esto, puede corregirse antes de cargar el mapa, después, o combinando ambas opciones.

- Antes de cargar el mapa, buscándolo en Google Maps (fuera del mapa que se está trabajando, y mejor con la opción de foto satelital para ayudarse en la identificación aérea de la huerta), y copiando las coordenadas que aparecen abajo cuando uno se posiciona en un lugar del mapa. En la figura 22 se señala un punto del mapa y se habilita la ventana con la información del lugar, por lo que es necesaria la georeferenciación (ej. -33.746738, -59.782046). Luego copiar esa información en la celda vacía de la columna de georeferenciación.

- Después de cargar el mapa, cuando aparece como error de ubicación. Cuando se importa la hoja de cálculo, lo primero que se ve es que hay huertas que aparecen en lugares fuera del territorio. En ese caso hay que moverlas manualmente, corregir la dirección tal cual como figura en Google maps o copiar las coordenadas en el ítem georeferenciación, siguiendo siguiendo lo señalado en el paso anterior.
- El otro error que se observa en el recuadro donde dice "No se pueden mostrar 22 filas en el mapa, corrige los errores marcados en rojo en la tabla de datos" (figura 23). En general las que no se encuentran son rurales, por eso la sugerencia de subirlas aparte o georeferenciarlas primero.
- Para corregir hay que ubicarse en la celda y modificar la dirección o copiar las coordenadas, al corregirse el error desaparece el triángulo rojo. Si hay errores que se repiten una opción es corregir en el Excel, con la herramienta buscar y reemplazar, por ejemplo J.V. Gonzalez por Joaquín V Gonzalez y así sucesivamente con los errores repetidos y volver a subir el mapa.
- En el caso de que hubiera calles sin nombrar, se pueden enviar sugerencias a Google, y en términos generales se modifican a la brevedad, haciendo click derecho sobre el punto y eligiendo "Añadir un sitio que falta" o "Informar un problema", según corresponda (figura 24).

Paso 4. Sobre las capas de información

Las capas son distintos mapas que se pueden superponer en función de la planificación e interés de cada técnico. Estas pueden corresponder a las variables que se elijan: temporadas, años, localidades, huertas urbanas y rurales, monitoreos, entre otros.

Para cada capa hay que hacer una hoja de cálculo de Microsoft Excel diferente y cargarlas separadas. Luego, según la información que se quiera analizar se puede seleccionar los estilos. Por ejemplo, por lugar de lugar de entrega, según ocupación del jefe de hogar, según si fue monitoreada o no, por barrios y se mostrarán distintos colores según el estilo seleccionado. Luego se puede establecer etiquetas y elegir por ejemplo Apellido, para que se marque sobre el punto en el mapa.

ANEXO 2. Formulario ajustado para la campaña para el registro de la entrega de semillas durante 2018

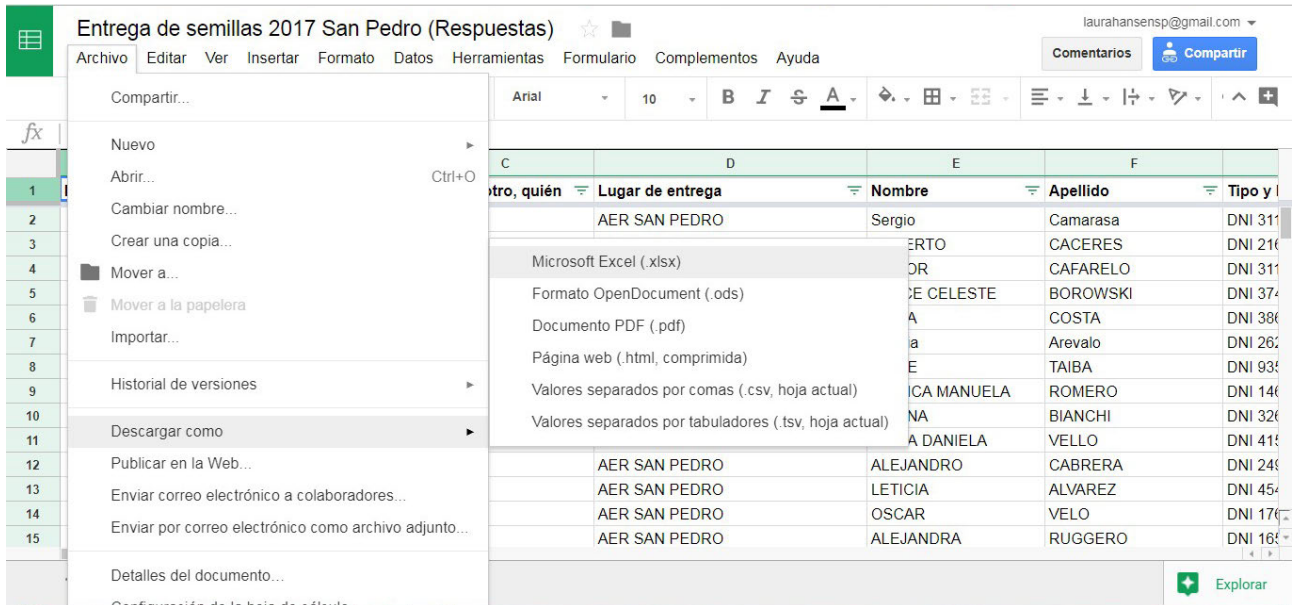
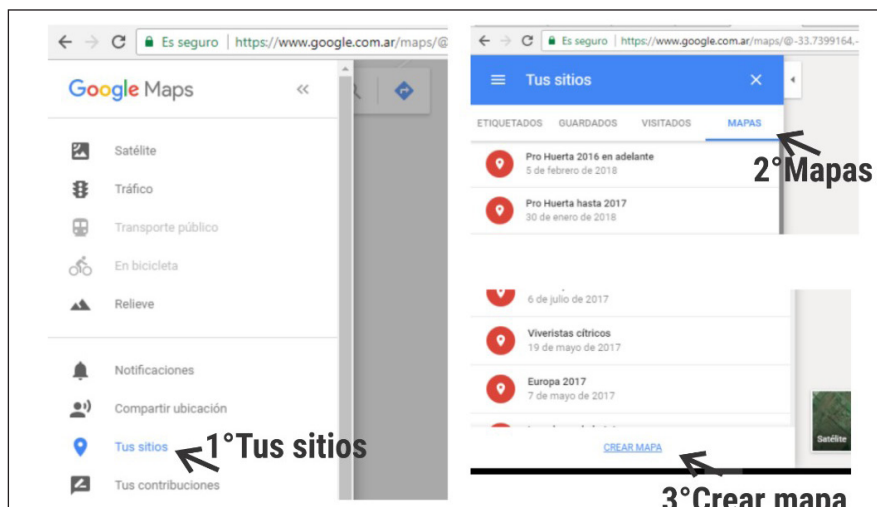


Figura 17. Procedimiento para descargar el archivo generado por la carga de formulario a una computadora local.

=Celda de dirección&”, “&Celda de localidad&”, Buenos Aires, Argentina”
 Donde, “Celda de dirección” corresponde a la referencia alfanumérica que utiliza la planilla de cálculo, como J2 o K3, y lo mismo con “Celda de localidad”.

Figura 18. Fórmula para definir geolocalización.



Figurar 19. Paso a paso para comenzar a crear el mapa.

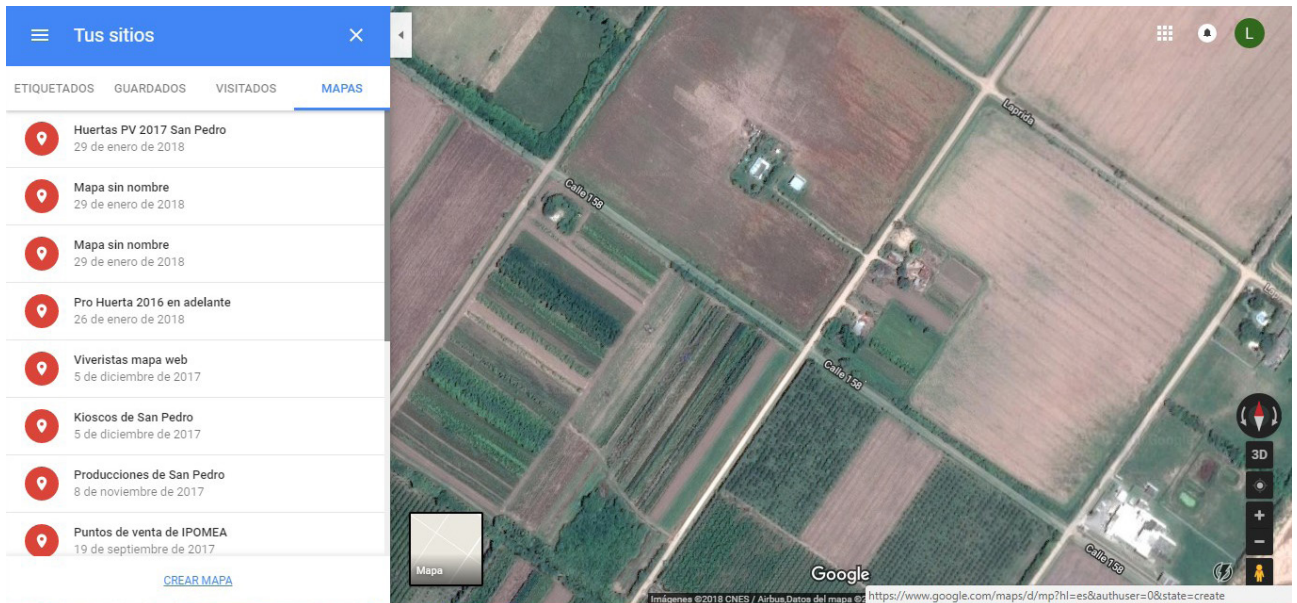


Figura 20. Como se visualiza el mapa cuando se creó.

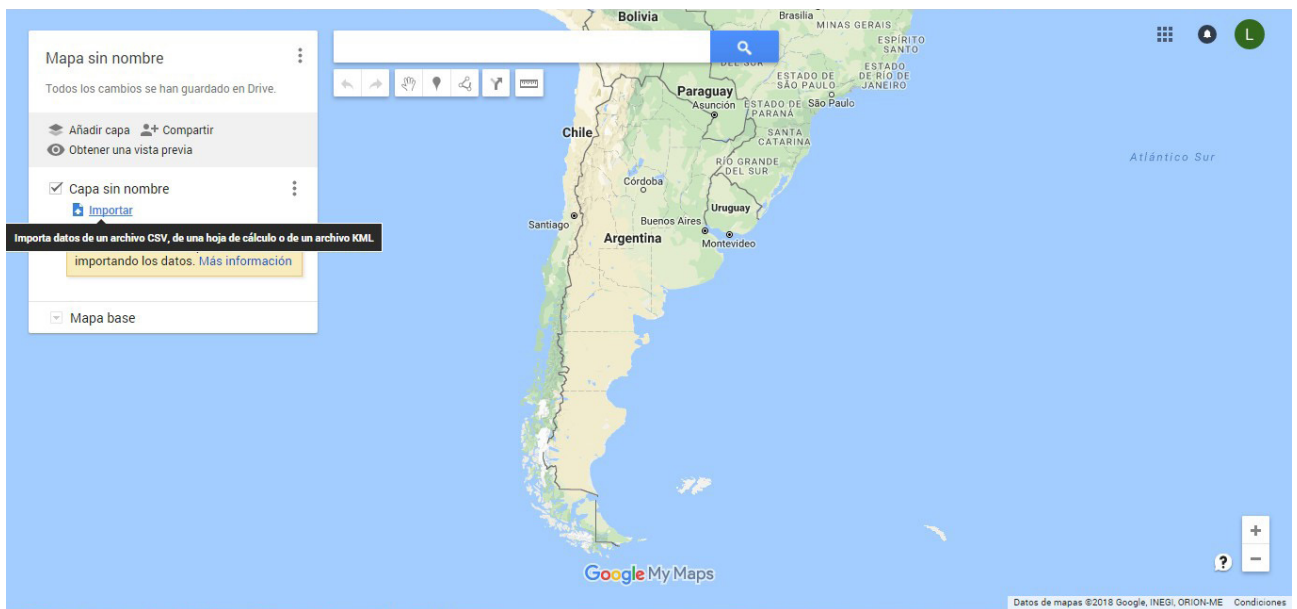


Figura 21. Para importar los datos procesados en la hoja de Microsoft Excel.



Figura 22. Ejemplo de cómo se visualiza la georreferenciación en un mapa tras haber señalado un punto.

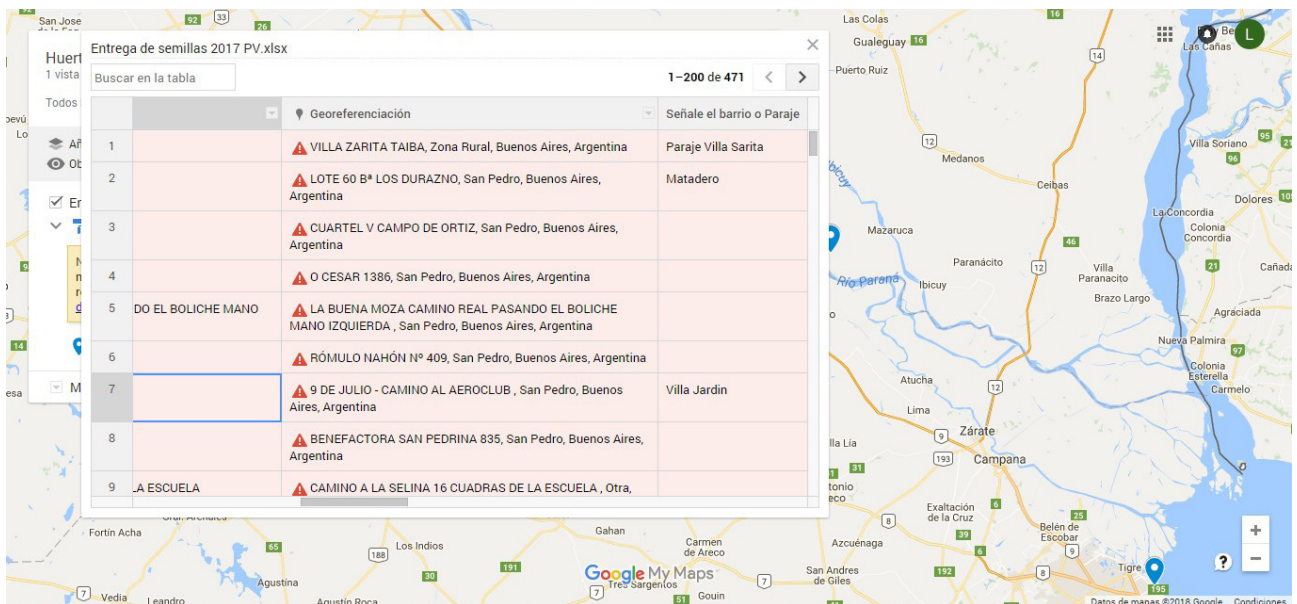


Figura 23. Captura sobre cómo se visualiza cuando la importación genera errores en la carga.

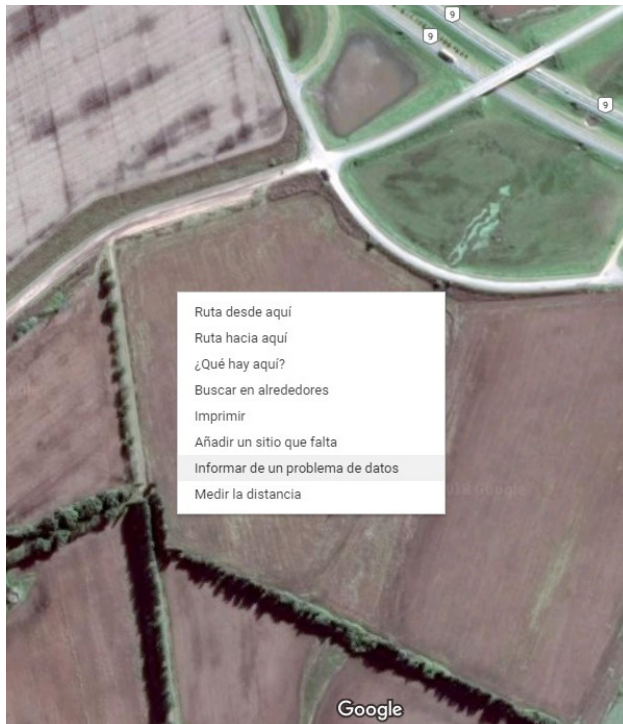
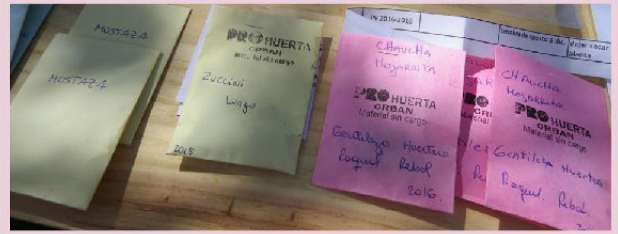


Figura 24. Ventana que se despliega con las opciones sobre el punto señalado con click derecho.

Entrega de semillas 2019

* Obligatorio



1. **Quién atendió a la persona** * (Lista desplegable con los nombres de las personas con más posibilidad de realizar esta tarea)
2. **Si eligió otro, quién** (Campo abierto para contestar)
3. **Campaña** * (Variante "opción múltiple" para marcar otoño-invierno, primavera-verano)
3. **Lugar de entrega** * (Lista desplegable con los nombres de los lugares de entrega, incluyendo todas las instituciones)
4. **El año pasado, ¿tuvo huerta?** (Variante "opción múltiple" para responder sí o no)
5. **Si respondió que tuvo huerta, ¿Pudo consumir las verduras?** (Variante "opción múltiple" para responder sí o no)
4. **Nombre** * (Campo abierto para contestar)
5. **Apellido** * (Campo abierto para contestar)
6. **DNI** * (Campo abierto para contestar)
7. **Localidad** * (Lista desplegable con el nombre de las localidades del partido)
8. **Dirección de la huerta** * (Campo abierto para contestar)
11. **Explicación del lugar si corresponde** * (Campo abierto para contestar)
10. **Teléfono celular** (Campo abierto para contestar)
11. **Teléfono fijo** (Campo abierto para contestar)
14. **Cantidad de miembros de la familia** * (Variante "opción múltiple" para elegir 1 a 10, o más de 10)
- 15.a. **Ocupación principal del jefe de familia** * (Variante "opción múltiple" para elegir entre las siguientes opciones:
 - Changas (jornalero o trabajador rural, ayudante de albañil, cortador de pasto)
 - Trabajo precario (servicio doméstico, motoquero, jardinero, repositor, peón rural, encargado de campo, casero-cuidador de campo, costurera, vendedor ambulante, chofer de taxi o de camión, oficios de la construcción)
 - Productores de la Agricultura familiar/ pequeño productor
 - Trabajadores formales (empleados de fábrica, de comercio, del Estado, administrativos, auxiliares y docentes, autónomos-profesionales, PYMES de la construcción, productor agropecuario y rentista)
 - Jubilación-pensión
 - Programas estatales de Empleo (Argentina Trabaja, Manos a la Obra, Ellas Hacen y Programas compatibles del Ministerio de Trabajo, Decreto, otros)
 - Desocupado
 - Ayuda de terceros (amigos, familia, cuota por alimentos)
 - No específica.
 - Otros)
- 15.b. **Recibe ayuda del Estado con un desplegable para tildar diferentes opciones, según programas sociales vigentes.** * (Variante "opción múltiple" para elegir entre las siguientes opciones:
 - Becas
 - Pensiones No Contributivas (por discapacidad/Madre de 7 Hijos)
 - Asignación Universal por Hijo /Asignación por Embarazo para Protección Social Mujeres desocupadas
 - No recibe
16. **Destino de la producción** * (Variante "opción múltiple" para elegir entre las siguientes opciones:
 - produce sólo para consumo del hogar
 - produce más de lo que consume y regala-intercambia lo que sobra
 - produce más de lo que consume y vende lo que sobra.
17. **Diversificación de la huerta** (Variante "opción múltiple" para marcar lo que efectivamente tenga:
 - Citricos
 - Frutales de carozo
 - Otros frutales
 - Gallinas
 - Pollos
 - Conejos
 - Ovejas
 - Cerdos
 - Otro animal de granja
 - Otros:
 - Aromáticas
 - Batata
 - Alcauciles
 - Cebolla
 - Produce semilla propia
18. **Se realiza entrega de Kit de semilla** * (Variante "opción múltiple" para elegir entre las siguientes opciones:
 - Urbana
 - Tipica
 - Suelta
19. **Observaciones** (Campo abierto para contestar)

Figura 25. Diagrama del formulario de la campaña 2018.

Estimación de la función de daño potencial y nivel de daño económico de *Caliroa cerasi* L. (*Hymenoptera: tenthredinidae*) en el Valle Inferior del Río Chubut (región Patagonia sur, Argentina)

BADO, S.G.¹

RESUMEN

Caliroa cerasi L. (Hymenoptera: Tenthredinidae), conocida popularmente como “babosita del peral”, es la principal plaga del cultivo de cerezo en la región Patagonia sur. Las larvas provocan importantes daños indirectos al alimentarse del follaje. La primera generación del insecto coincide con el período de desarrollo y maduración de los frutos. El manejo de este insecto se basa principalmente en el control químico en momentos próximos a la cosecha. Sin embargo, no se han desarrollado criterios cuantitativos para la toma de decisiones que contribuyan a racionalizar las aplicaciones de insecticidas. Esta situación podría contribuir a generar problemas ecotoxicológicos y gastos innecesarios para el productor. El objetivo del trabajo fue establecer una función de daño potencial (pérdida de rendimiento (PR) en función de la densidad larval de la “babosita del peral”) a partir de datos de laboratorio, y calcular un nivel de daño económico correspondiente a la utilización del piretroide más empleado (lambdacilotrina). La metodología consistió en determinar el área foliar consumida por larva mediante una cría individual llevada a cabo en laboratorio y del rendimiento potencial (kg arbol^{-1}), teniendo en cuenta la relación lineal entre la radiación fotosintéticamente activa interceptada (IPAR) y el rendimiento. La IPAR se calculó según densidad larval e índice de área foliar (IAF). La función de rendimiento para un árbol objetivo, con un IAF = 4, se representó mediante la ecuación cuadrática $PR = -1,62774x^2 - 0,2987x + 24,55$ ($R^2 = 0,99$) a partir de la que se calculó la función de daño ($Y = 0,1631x^2 + 0,2973x - 1E-04$; $R^2 = 0,99$). El nivel de daño económico (NDE) calculado para las condiciones más frecuentes en el valle brindó un valor de 1 babosita cada 20 hojas.

Palabras clave: babosita del peral, cerezo, consumo foliar, función de rendimiento, nivel de daño económico.

ABSTRACT

Caliroa cerasi L. (Hymenoptera: Tenthredinidae), popularly known as “pear slug”, is the main pest of cultivated cherry in the Southern Patagonia Region. The larvae cause significant indirect damage by feeding on the foliage. The first generation of the insect coincides with the period of development and maturation of the fruits. Insect management is based mainly on chemical control in moments close to harvest. However, quantitative criteria for decision making, which would help to rationalize insecticide applications, have not been developed. This situation could contribute to ecotoxicological problems and unnecessary expenses for the grower. The

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA), Chubut. 25 de mayo 4870 (9100) Trelew. Correo electrónico: bado.silvina@inta.gob.ar

objective of this work was to establish a potential crop damage function (loss of yield (PR) as a function of larval density) for “pear slug” from laboratory data, and to calculate the economic damage level for the most used pyrethroid (lambdacioltrina). The methodology consisted in determining the leaf area consumed by individual larvae bred in the laboratory and trees potential yields (kg tree⁻¹) considering the linear relationship between photosynthetically active radiation (IPAR) and yield. The IPAR was calculated according to larval density and leaf area index (LAI). The yield function of an objective tree, with a LAI= 4, was represented by the quadratic equation $PR = -1.62774x^2 - 0.2987x + 24.55$ ($R^2 = 0.99$) from which the damage function was calculated ($Y = 0.1631x^2 + 0.2973x - 1E-04$; $R^2 = 0.99$). The economic damage level (NDE) calculated for the most frequent conditions in the valley, gave a value of 1 “pear slug” every 20 leaves.

Keywords: “pear slug”, cherry, foliar consumption, yield function, economic damage level.

INTRODUCCIÓN

Caliroa cerasi L. (Hymenoptera: Tenthredinidae), conocida vulgarmente como “babosita del peral”, es la principal especie perjudicial del cultivo de cerezo en la región Patagonia sur. El daño es producido por las larvas que consumen tejido foliar respetando las nervaduras. Las hojas dañadas se deshidratan y el árbol toma aspecto de quemado (Van Epenhuijsen y Silva, 1991).

En el Valle Inferior del Río Chubut (VIRCh) este insecto puede cumplir hasta tres generaciones anuales (Bado, 2010). Las larvas de la primera generación (época primavera) pueden afectar el desarrollo del fruto al reducir el área foliar, limitando la fuente de fotoasimilados en este período. Los ataques después de cosecha pueden comprometer la producción de la siguiente temporada al afectar la acumulación de reservas (Cittadini, 2004).

En la producción frutícola, para permitir altos rendimientos en forma sostenida a través de los años y aceptable calidad de fruta, con adecuados niveles de luz en el interior de la canopia, se requiere que la intercepción de radiación fotosintéticamente activa sea de aproximadamente 75% (Gil Salaya, 1999), lo cual para los cultivos de cerezo de Patagonia sur coincide con un IAF (unidad de área foliar por unidad de terreno) a cosecha estimado en un rango entre 3,2 y 2,9 (Cittadini y Perri, 2006), aunque observaciones empíricas posteriores lo ubicarían en niveles más elevados, cercanos a 4 (Cittadini, comunicación personal). Los árboles que presentan dicho IAF son llamados “árboles objetivo” dado que a este tipo de árboles habrá que apuntar mediante las prácticas de manejo (podas, riego, fertilización, etc.). Hasta este nivel de intercepción, la producción total de materia seca crece en forma directamente proporcional a la luz interceptada, siendo la radiación fotosintéticamente activa (IPAR) la principal variable que define la fotosíntesis (Patrick, 1988; Cittadini, 2007). Hochmaier (2010) detectó un incremento significativo del rendimiento (kg árbol⁻¹) en función de la IPAR, pero no encontró diferencias significativas entre las variedades de cerezo.

Hasta el presente, en el VIRCh, el manejo de *C. cerasi* se basa principalmente en el control químico con aplicación de

piretroides, entre los que se destaca la lambdacioltrina, en momentos próximos a la cosecha. Sin embargo, no se han desarrollado criterios cuantitativos para la toma de decisiones que contribuyan a racionalizar las aplicaciones de insecticidas. Esta situación podría contribuir a generar problemas ecotoxicológicos y gastos innecesarios para el productor.

Por una parte, el nivel de daño económico (NDE) es aquella densidad de la plaga cuyo perjuicio monetario por el daño ocasionado al cultivo iguala el costo del manejo. Por otra parte, el umbral económico es la densidad de la plaga ante la cual se toma la decisión de aplicar una medida de manejo a los efectos de evitar que la densidad poblacional de la plaga supere el nivel de daño económico (Stern *et al.*, 1959). Van Epenhuijsen y Silva (1991) en cultivos de cerezo de Nueva Zelanda brindan como umbral de daño económico tentativo de *C. cerasi* una densidad de 0,25/hoja (una babosita/4 hojas).

Para el cálculo del nivel de daño económico de una plaga en un cultivo dado, se debe ajustar la “función de daño”, que consiste en una descripción estadística de la relación entre la densidad poblacional con la pérdida porcentual de la producción del cultivo (Vigiani, 1990; Faberi *et al.*, 2014). Esta por lo general resulta lineal solo para un estrecho rango de valores de densidad de la plaga (Pedigo *et al.*, 1986) y puede ser válida para algunos estados fenológicos del cultivo. El NDE carece de valor único y varía según los costos, precios, etapas fenológicas, rendimientos, variedades, zonas y épocas de año (Hruska y Rosset, 1987).

El objetivo del trabajo fue establecer una función de daño potencial de *C. cerasi* en cultivos de cerezo en la región Patagonia sur, a través de la medición del consumo medio de larvas y funciones ya determinadas por otros autores, como base para calcular niveles de daño económico de la primera generación de larvas.

MATERIALES Y MÉTODOS

a. Cálculo del área foliar consumida por larva: se colocaron larvas neonatas (n=50) de *C. cerasi* individualmente en recipientes cilíndricos de plástico de 12 cm

de alto y 11 cm de diámetro. En su interior se colocó un papel absorbente humedecido para evitar su desecación. La cría se mantuvo a una temperatura media de 25 °C y 40% de HR. Se las alimentó a lo largo de todo su desarrollo (40 días aproximadamente) con hojas de cerezo (*Prunus avium* L.) obtenidas principalmente de plantas de crecimiento libre de las variedades Lapins y Bing con pie Mahaleb, ubicadas en el predio experimental EEA Chubut y regadas por medio de surcos. Diariamente se les proveyó hojas frescas, retirándose las hojas consumidas para medir su área foliar remanente mediante un escáner. Una vez obtenida la imagen en formato JPG, se empleó el programa Uthsca Imagetool 3.0 (Castiglioni *et al.*, 2002) para la cuantificación del área ingerida por larva.

b. Cálculo de la función de rendimiento: se estimó el rendimiento potencial (kg árbol⁻¹) en función de la radiación fotosintéticamente activa interceptada (IPAR) mediante la fórmula determinada por Hochmaier (2010) (1) quien halló una relación lineal entre estas variables para las variedades Lapins y Bing sobre pie Mahaleb.

$$\text{Rendimiento: } -10,22 + 0,42 \text{ IPAR} \quad (1)$$

Para el cálculo de IPAR se utilizó la fórmula de Goudriaan y Van Laar (1994) (2) considerando valores de IAF desde 1,5 hasta 4,5 y carga larval desde 0 larva hoja⁻¹ en adelante.

$$\text{IPAR} = (1 - pc) \times (1 - \exp(-K \times \text{IAF corregido})) \quad (2)$$

pc = coeficiente de reflexión de las hojas

K = coeficiente de extinción de la luz

IAF corregido = IAF x factor de corrección

Tanto pc como K dependen del ángulo de incidencia de la radiación (Goudriaan y Van Laar, 1994). El coeficiente de reflexión de la canopia (pc) se encuentra normalmente entre 0,08 y 0,1. El coeficiente de extinción de luz (K) en cultivos frutales en hileras es de alrededor de 0,5 mientras que en montes con canopias más homogéneas tienen valores más altos (0,7). Para los cálculos se tomó 0,6 (Jackson, 1980) (Cittadini, 2007).

Los valores de IAF fueron corregidos (3) en función del consumo foliar medio larval calculado, considerándose un tamaño medio de la hoja de cerezo de 60 cm² (Cittadini y Peri, 2006).

Factor de corrección n del IAF = (tamaño de la hoja – superficie consumida por la correspondiente densidad larval n)/tamaño de la hoja) (3)

La determinación de la función de rendimiento se hizo sobre un IAF = 4, es decir, para un “árbol objetivo”, haciendo una regresión del rendimiento potencial en función de la densidad larval.

c. Cálculo de la función de daño: la diferencia entre rendimiento máximo estimado por la función de rendimiento (sin larvas) y el calculado según densidades larvales

crecientes permitió establecer una función de daño, es decir, la pérdida de rendimiento por densidad larval.

d. Cálculo del nivel de daño económico: se tomó la siguiente ecuación, adaptada de Pedigo *et al.* (1986).

$$C = d f(d) K P \quad (4)$$

donde C es el costo de la medida de control (\$.arbol⁻¹), d representa la densidad poblacional de la plaga (número de individuos.hoja⁻¹), f(d) es la función de daño, dependiente de d (kg.individuo⁻¹.arbol⁻¹), K es la eficiencia de control (proporción), y P es el precio de la fruta (\$.kg⁻¹).

En esta experiencia C se consideró como el costo de aplicación más del insecticida. Se utilizó el precio que cuesta encargar este servicio a un tercero en el VIRCh (1 maquinada/ha, más el coste varía por el producto elegido), dosis (kg o litro de producto/100 litros) y el gasto (volumen de caldo/ha) utilizados. El cálculo se realizó con el producto más empleado para el control de *C. cerasi* cuyo principio activo es la lambdacialotrina (PC 25% CS) empleando una dosis de 4 cm³ hl⁻¹, utilizando un volumen aproximado de 1500 litros por ha. El costo considerado fue 300 \$.ha⁻¹ (precio año 2014). Dado que se consideró un sistema de conducción por medio de “vaso español” (densidad de 1000 árboles ha⁻¹), el costo de aplicación por árbol fue 0,3 \$.

Se consideró una eficiencia del control (K) (grado de supresión de la plaga efectuado por el control) de 80%.

El precio promedio obtenido durante la campaña 2013-2014 fue de 20 \$.kg⁻¹

Debido a que la función de rendimiento, f(d), resultó ser no lineal, el cálculo del nivel de daño económico se realizó mediante un proceso iterativo implementado con la función “Buscar objetivo” de una planilla de cálculo. Este procedimiento consistió en la siguiente secuencia de pasos: 1) asignación de un valor a d; 2) cálculo del segundo miembro de la Ec. 4; 3) cálculo de la diferencia C-d.f(d).K.P; 4) según el resultado de esta diferencia sea positivo o negativo, se incrementa o se disminuye levemente el valor de d, respectivamente y se repiten los pasos 1 a 4; 5) el procedimiento se detiene cuando C-d.f(d).K.P < ±0.001.

RESULTADOS

El área foliar promedio consumida por larva a lo largo de todo su desarrollo (40 ± 2 días) fue de 14,11 ± 3,87 cm².

Al calcular los valores de IPAR, considerando distintos IAF y densidades larvales, se observó que árboles con un IAF menor a 3, aún sin presencia de larvas de *C. cerasi*, presentaron valores inferiores a 75%, considerado óptimo. En el caso de un IAF = 4 (“árbol objetivo”) los porcentajes de IPAR resultaron inferiores al óptimo a partir densidades larvales mayores a 1 babosita por hoja, mientras que para

Larvas /hoja	Consumo (cm ² /hoja)	Factor de corrección	Porcentaje de PAR en función del IAF y la cantidad de larvas/ hoja							
			IAF							
			1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	
0	0	1,000	54,6	64,3	71,5	76,8	80,7	83,7	85,8	
0,5	7,055	0,882	50,4	60,1	67,5	73,2	77,6	80,9	83,5	
1	14,11	0,765	45,8	55,3	62,8	68,8	73,5	77,3	80,3	
1,5	21,165	0,647	40,6	49,7	57,2	63,3	68,4	72,5	76,0	
2	28,22	0,530	34,9	43,3	50,4	56,5	61,8	66,2	70,0	
2,5	35,275	0,412	28,5	35,9	42,4	48,2	53,3	57,8	61,8	
3	42,33	0,295	21,4	27,4	32,9	37,9	42,4	46,6	50,5	
3,5	49,385	0,177	13,5	17,6	21,4	25,1	28,5	31,8	34,9	
4	56,44	0,059	4,8	6,3	7,8	9,3	10,8	12,2	13,6	

Tabla 1. Disminución potencial de la radiación fotosintéticamente activa interceptada (IPAR) en función del índice de área foliar (IAF) y la cantidad de larvas por hoja. Los valores resaltados en negrita y cursiva indican porcentajes de intercepción por debajo del óptimo (75%) para obtener buenos rendimientos.

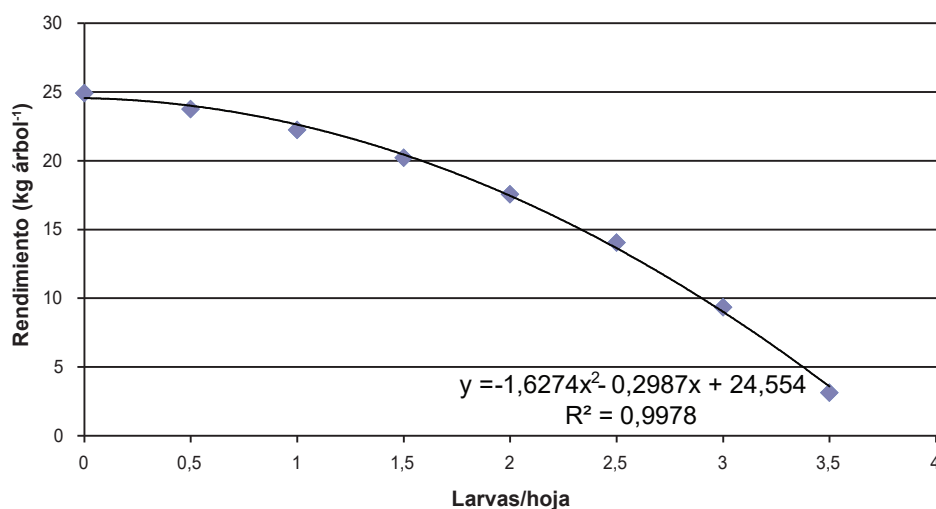


Figura 1. Rendimiento (kg árbol⁻¹) en función de la densidad larval (larvas/hoja).

árboles con menores IAF, los IPAR fueron afectados ante menores densidades de larvas (tabla 1).

Considerando la fórmula 1 se estimaron rendimientos potenciales (kg árbol⁻¹) correspondientes a cada valor de IPAR interceptada para un IAF = 4. Al graficarse dichos valores de rendimientos (de los que se tomaron los valores positivos solamente) en función de la densidad larval, la curva obtenida se ajustó a una relación polinómica ($y = -1,62774x^2 - 0,2987x + 24,55$; $R^2 = 0,99$) (figura 1) (Función de rendimiento).

La función de daño ($Y = 0,1631x^2 + 0,2973x - 1E-04$; $R^2 = 0,99$) obtenida al graficar la pérdida de rendimiento ante densidades larvales crecientes se presenta en la figura 2.

El valor de NDE calculado por la fórmula y metodología señalada fue de 0,05 babositas hoja⁻¹, es decir, 1 babosita cada 20 hojas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Pedigo *et al.* (1986) afirman que la relación entre el daño y el rendimiento es el componente más importante para el cálculo del NDE, pero señalan que el área ha sido descuidada por los entomólogos. Numerosos autores mencionan la complejidad de la determinación de la interacción entre la respuesta del cultivo y el daño. La escasez de antecedentes bibliográficos donde se estima el efecto del daño de insectos en frutales podría tener su fundamento en lo señalado por estos autores.

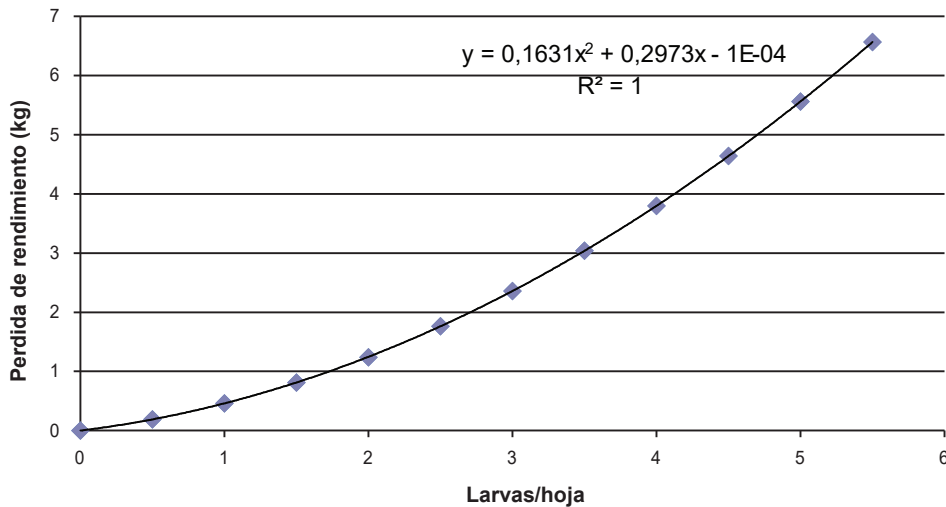


Figura 2. Función de daño (m).

Por una parte, si bien Peschiuto *et al.* (2011) realizaron estudios del daño que produce *C. cerasi* en distintas variedades de cerezo, no mencionan densidades larvales ni los efectos en los rendimientos. Por otra parte, según Pedigo *et al.* (1986), en algunas especies el agrupamiento de insectos a altas densidades puede disminuir el daño por la competencia entre individuos o por una reducción acumulativa en la disponibilidad de alimento. Sin embargo, en la mayoría de los casos, la relación entre densidad/daño resulta lineal y el daño se considera como aditivo, razón por la que en este caso se consideró de tal modo.

Dado que los valores obtenidos en esta experiencia se basan en funciones determinadas en trabajos previos, podrían obtenerse otras "funciones de daño" considerando para árboles de distintos IAF. En el caso de la IPAR, el coeficiente de reflexión podrá variar con la localización geográfica, así como con la distribución de las plantas, considerada en el valor de k. En este trabajo, para determinar la función de daño se contempló el "árbol objetivo" y para el cálculo del NDE, los valores de los parámetros más comunes en el VIRCh. Tal como surge de la fórmula empleada en este caso (Pedigo *et al.*, 1986), los valores de NDE disminuyen con el aumento de la eficiencia de control, el precio del kilo de fruta y el rendimiento potencial.

El valor de NDE obtenido fue de 0,05 babositas hoja⁻¹, es decir, 1 babosita cada 20 hojas. Este valor resultó menor al mencionado por Van Epenhuijsen y Silva (1991) de 0,25 larvas/hoja en cultivos de cerezo de Nueva Zelanda, quienes no mencionan bajo qué condiciones lo determinaron. El costo del control resulta escaso si se tiene en cuenta un rendimiento medio de rendimiento promedio de 10 t.ha⁻¹ y 20 \$.kg⁻¹. Trumper (2004) señala que en general, mientras mayor es el costo de la medida de control seleccionada, se puede tolerar un mayor número de insectos antes de

decidir la aplicación (aumenta el NDE) y puede encontrarse una gran diferencia en el nivel de daño económico con solo cambiar el insecticida para emplear.

Higley y Wintersteen (1992) señalan que el costo ambiental o del agroecosistema debe ser también incluido en la ecuación de cálculo, factor no considerado en esta experiencia. Sarandon (2002) afirma que el concepto de daño económico debería ser analizado con un enfoque superador al de los costos-beneficio de la economía neoclásica incluyendo los costos ocultos de contaminación y pérdida de biodiversidad.

Si bien los valores obtenidos por esta metodología son teóricos y deberán ser corroborados a campo y ajustados, pueden significar un punto de partida, y proveer beneficios potencialmente significantes en el manejo de plagas (Riley, 2004).

AGRADECIMIENTOS

Al Sr. Horacio Tapia por su colaboración en la utilización del programa ImageTool, al PHD Ing. Agr. Eduardo Cittadini, al Dr. E. Trumper y Augusto C. Bado por sus útiles aportes.

BIBLIOGRAFÍA

BADO, S.G. 2010. Dinámica poblacional de *Caliroa cerasi* L. (Hymenoptera: Tenthredinidae) en cultivos de cerezo (*Prunus avium* L.) (Rosaceae) del Valle Inferior del Río Chubut (Patagonia Sur- Argentina). Revista IDESIA 28 (3), 51-60.

CASTIGLIONI, E.J.; VENDRAMIM, D.; TAMAI, M. A. 2002. Evaluación del efecto tóxico de extractos acuosos y derivados de meliáceas sobre *Tetranychus urticae* (k.) Agrociencia 6, 75-82.

CITTADINI, E.D. 2004. Manejo de plagas y enfermedades del cultivo de cerezo en el Valle Inferior del Río Chubut. Publicación técnica INTA EEA Chubut. 4 p.

- CITTADINI, E.D. 2007. Ecofisiología y potencial productivo del cerezo. En: CITTADINI, E.D.; SAN MARTINO, L. El cultivo de cerezo en Patagonia Sur: Tecnología de manejo, empaque y comercialización. Ediciones INTA, Buenos Aires, Argentina. 21-30 pp.
- CITTADINI, E.D.; PERI, P.L. 2006. Estimation of leaf area in sweet cherry using a non-destructive method. RIA 34 (1), 143-150.
- FABERI, A.J.; CLEMENTE, N.L.; MANETTI, P.L.; LOPEZ, A.N. 2014. Nivel de daño económico de *Armadillium vulgare* (Latreille, 1804) (Crustacea: Isopoda) en el cultivo de girasol. RIA 40 (2), 182-188.
- GIL SALAYA, G.F. 1999. Fruticultura: El potencial productivo. Crecimiento vegetativo y diseño de huertos y viñedos. Alfaomega. México, D. F. 342 p.
- GOUDRIANN, J.; VAN LAAR, H.H. 1994. Modelling potential crop growth processes. Textbook with exercises. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Países Bajos. 237 p.
- HIGLEY, L.G.; WINTERSTEEN, W.K. 1992. A novel approach to environmental risk assessment of pesticides as a basis for incorporating environmental costs into economic injury levels. American Entomologist 38, 34-39.
- HOCHMAIER, V.E. 2010. Desarrollo y evaluación de métodos prácticos no destructivos para la estimación del área foliar (AF) por árbol y cálculo del Índice de Área Foliar (IAF) en montes de cerezo (*P. avium* L.). Tesis Università degli Studi di Bologna para optar el grado académico de Master Scientia en Fruticultura de clima templado-frío. 68 p.
- HRUSKA, A.J.; ROSSET, P.M. 1987. Estimación de los niveles de daño económico para plagas insectiles. Curso/Taller sobre estimación de los niveles de daño económico para plagas insectiles 24-28 de agosto 1987. San José, Costa Rica. Proyecto MIP/ CATIE/CR.
- JACKSON, J.E. 1980. Light interception and utilization by orchard systems. Hort. Rev. 2, 208-267.
- PATRICK, J.W. 1988. Assimilate partitioning in relation to crop productivity. HortScience 23 (1), 33-40.
- PEDIGO, L.P.; HUTCHINS, S.H.; HIGLEY, L.G. 1986. Economic injury levels in theory and practice. Ann. Rev. Entomol. 31, 341-368.
- PESCHIUTTA, M.L.; BUCCI, S.J.; SCHOLZ, F.G.; ARIAS, N.; PEREYRA, D.; GOLDSTEIN, G. 2011. Impact of herbivory on leaf hydraulic traits and stomatal conductance in sweet cherry (*Prunus avium*). XIII Congresso brasileiro de Fisiologia Vegetal. XIV Reunión latino americana de Fisiologia Vegetal. Mudanças climáticas globais: do gene à planta. Buzios, Brasil.
- RILEY D.G. 2004. Economic Injury Level (EIL) and Economic Threshold (ET) Concepts in Pest Management. En: Encyclopedia of Entomology. Springer, Dordrecht.
- SARANDON, S.J. 2002. La agricultura como actividad transformadora del ambiente. El impacto de la agricultura intensiva de la revolución verde. En SARANDON, S.J. (Ed.). Capítulo 1. Agroecología: El camino hacia una agricultura sustentable. Ediciones Científicas Americanas, La Plata. 23-48 pp.
- STERN, V.M.; SMITH, R.F.; VAN DEN BOSCH, R.; HAGEN, R.S. 1959. The integrated control concept. Hilgardia 29, 81-101.
- TRUMPER, E. 2004. Información Técnica. Cálculo del Nivel de Daño económico del barrenador del tallo (*Diatraea saccharalis*) en maíz. (Disponible: http://agrolluvia.com/wp-content/uploads/2010/03/inta-eea-manfredi-calculo-del-nivel-de-dano-economico-del-barrenador-del-tallo-_diatraea-saccharalis_-en-maiz.pdf verificado: 13 de marzo de 2018).
- VAN EPENHUIJSEN, C.W.; DE SILVA, H.N. 1991. Monitoring and control of pear slug (sawfly) in an organic nash orchard. Proc. 44 th N. Z. Weed and Pest Control Conf. 80:85.
- VIGIANI, A.R. 1990. Hacia el control integrado de plagas. Editorial Hemisferio Sur S. A. Buenos Aires. Argentina. 124 p.

Insecticidas con posibilidad de registro en cereza en Argentina y sus implicancias para la exportación de frutas frescas

CICHON, L.¹; ARAQUE, L.²; GARRIDO, S.¹; LAGO, J.¹; CUELLO, N.²

RESUMEN

En la Norpatagonia argentina se observa, en los últimos 5 años, un constante incremento de la superficie cultivada con cerezos. Ligado a esto, se registra un aumento de la incidencia de plagas que obliga a realizar tratamientos de control específico. En la actualidad el número de insecticidas registrados para dicho cultivo es muy escaso y no siempre tiene relación con la eficacia de control de las plagas presentes. Además, el comercio internacional de frutos frescos requiere del conocimiento de la declinación de los plaguicidas para alcanzar las tolerancias establecidas por cada país comprador y los estándares secundarios de comercialización, si existieran. El objetivo del presente trabajo es analizar la declinación de seis insecticidas de posible uso según las plagas presentes en la región y determinar sus implicancias en el intercambio comercial de ultramar. Los insecticidas estudiados fueron: abamectina, benzoato de emamectina, lambdacialotrina, spinetoram, spirotetramate y metomil. La fruta pulverizada y cosechada a diferentes períodos luego de la aplicación, en la localidad de Contralmte. Guerrero, fue analizada por cromatografía de gases con detector de masas-masas (GC-MS-MS) con un límite de cuantificación (LC) de 0,01 mg/kg y de detección (LD) de 0,005 mg/kg. La mayoría de los insecticidas evaluados en frutas de cereza resultaron no detectables a los 45 días, a excepción del spirotetramate (0,01 ppm) y lambdacialotrina (0,03 ppm). A los 14 días de la pulverización, los residuos de abamectina, benzoato de emamectina y spinetoram declinaron a valores inferiores a 0,01 ppm. Cada uno de estos insecticidas posee diferentes tipos de limitaciones de uso en cuanto a su registro y tolerancia en los países a los cuales se desea exportar cerezas. Se realiza un análisis particular en cada uno de ellos. Por una parte, esta información es relevante, especialmente luego de la reciente introducción a la región de la plaga exótica *Drosophila suzukii*. El ciclo productivo del cultivo de cerezos es corto y la plaga afecta los frutos desde el envero hasta el final de la cosecha, por esta razón el conocimiento de la declinación de los insecticidas eficaces para su control debe ser muy preciso. Por otra parte, es indispensable diseñar estrategias de intervención sanitarias integrando diferentes tipos de herramientas, asegurando un manejo adecuado de la resistencia a los plaguicidas.

Palabras clave: cerezas, plagas, manejo sanitario, residuos de plaguicidas.

ABSTRACT

In the Argentine Norpatagonia, a constant increase of the cherry production area has been observed in the last 5 years. Linked to this, there is an increase in the incidence of pests that requires specific control treatments. Currently, the number of insecticides registered for this crop is very low and in some cases it is not related to the effectiveness of control of the present pests. In addition, the international trade of fresh fruits requires knowledge of the decline of pesticides to reach the tolerances established by each buyer country

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Alto Valle, CC782, 8332 Gral. Roca, Río Negro, Argentina. Correo electrónico: cichon.liliana@inta.gob.ar

²Centro de Investigación y Asistencia Técnica a la Industria, Asociación Civil (CIATI AC), Av. Mitre y 20 de Junio, 8336 Villa Regina, Río Negro, Argentina. Correo electrónico: liliana@ciati.com.ar

and the secondary residue standards of commercialization if they exist. The objective of the present work is to analyze the decline of six insecticides of possible use according to the pests present in the region, and to determine their implications in the overseas commercial exchange. The insecticides studied were: abamectin, emamectin benzoate, lambda-cyhalothrin, spinetoram, spirotetramate and methomyl. The fruit, pulverized and harvested at different periods after application, in Cmte Guerrico area, was analyzed by gas chromatography with mass-mass detector (GC-MS-MS) with a limit of quantification (LC) of 0.01 mg / kg and detection (LD) of 0.005 mg / kg. Most of the insecticides evaluated in sweet cherry fruits were found to be non-detectable at 45 days, with the exception of spirotetramate (0.01 ppm) and lambda-cyhalothrin (0.03 ppm). At 14 days after spraying, the residues of abamectin, emamectin benzoate and spinetoram declined to values below 0.01 ppm. Each of these insecticides has different types of use limitations in terms of their registration and tolerance in the countries to which they wish to export sweet cherries. A particular analysis is carried out in each of them. This information is relevant, especially after the recent introduction to the region, of the exotic pest *Drosophila suzukii*. The productive cycle of the cherry cultivation is short and the pest affects the fruits from the veraison until the end of the harvest, for this reason the knowledge of the decline of the effective insecticides for its control, must be very precise. On the other hand, it is essential to design health intervention strategies integrating different types of tools, ensuring adequate management of resistance.

Keywords: sweet cherry, pests, pest managements, pesticides residues.

INTRODUCCIÓN

La región de la Norpatagonia posee una producción de 33.000 t de frutas finas incluida la cereza. Mientras que la crisis frutícola afecta la implantación de nuevas hectáreas de frutales de pepita (su principal base económica), en el año 2016, el cultivo de cereza se incrementó en un 30% con la superficie actual implantada de 440 ha en Río Negro y 328 ha en la provincia de Neuquén (Senasa, 2016). Las plagas presentes en la región y que potencialmente afectarían al cultivo del cerezo son grafolita *Cydia molesta* (Busck), piojo de San José *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock), cochinilla coma *Lepidosaphes ulmi* (Linnaeus), cochinilla harinosa *Pseudococcus viburni* (Signoret), babosita del peral *Caliroa cerasi* (Linnaeus), chicharrita amarilla *Edwardsiana crataegi* (Douglas), arañuela roja europea *Panonychus ulmi* (Koch), arañuela roja común *Tetranychus urticae* (Koch), arañuela parda *Bryobia rubrioculus* (Scheuten), trips de las flores *Frankiniella occidentalis* (Pergande), Taladrillo chico de los frutales *Scolytus rugulosus* (Müller), mosca de alas manchadas *Drosophila suzukii* (Matsumura).

Actualmente, se realizan una o dos aplicaciones por temporada, básicamente dirigidas al control de taladrillo chico de los frutales. Esta plaga se hace presente en los montes frutales donde se emplean sistemas de conducción muy intensos que provocan un estrés de las plantas. Sin embargo, en los últimos años se han producido incrementos puntuales, de algunas de las plagas mencionadas. Adicionalmente a este hecho, se ha registrado la presencia de una plaga exótica *Drosophila suzukii*, atacando diferentes hospederos entre los que se encuentra la cereza (Cichón et al., 2016). Este nuevo escenario requerirá de un nuevo diseño de programas sanitarios en cerezas, probablemente con un mayor empleo de insecticidas.

Las provincias de Río Negro y Neuquén producen aproximadamente 3.500 y 2.500 t respectivamente de cerezas, de las cuales 1.670 t se exportan con destinos muy diversos como Hong Kong, Estados Unidos (EE. UU.), Unión Europea (UE), Singapur, Emiratos Árabes, India, Canadá, entre otros (Senasa, 2016). Para poder acceder a estos mercados se debe cumplir con la legislación propia de cada país o conjunto de países (como en el caso de la UE), referida a los registros y tolerancias (límites máximos de residuos o LMR) de agroquímicos (tabla 1). Por una parte, cada país establece sus propios LMRs que resultan en valores o tolerancias que complican la labor sanitaria de los exportadores, cuando los destinos de la fruta están conformados por una gran diversidad de países (Haviland y Beer, 2012). Por otra parte, en Europa básicamente, se está imponiendo el concepto “estándares secundarios de comercialización”, exigencias específicas de cada comprador (grandes cadenas de supermercados) de productos frescos, referidas a las tolerancias o valores de residuos presentes en frutas frescas. Dichas exigencias, comúnmente son muy inferiores a las tolerancias legales y se emplean solo para obtener una posición más ventajosa frente a un sector de los consumidores que prefieren productos con una mínima cantidad o libre de residuos de plaguicidas (Idigoras, 2014).

En Argentina, debido al escaso o nulo empleo de plaguicidas en el cultivo de cerezos, el número de productos registrados para el control de plagas es muy bajo. Durante los años 2015 y 2016 se autorizó provisoriamente el uso de algunos insecticidas caducando dicho permiso, el 31 de marzo del 2017 (Ciancaglini, 2017, com. pers.).

Actualmente el escenario sanitario productivo del cultivo de cereza es altamente complejo debido principalmente al

aumento a nivel regional de la incidencia de plagas que afectan al cultivo, la falta de registro de principios activos en Argentina, las crecientes limitaciones de los países importadores de frutas en cuanto a registro; tolerancias y nuevos estándares de comercialización.

El objetivo del presente estudio fue disponer de información sobre la declinación de algunos insecticidas de posibles usos en cereza, que permita orientar su empleo en los diferentes planes sanitarios, según los diferentes destinos de la producción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Insecticidas evaluados

Se seleccionaron los insecticidas considerando la eficacia evaluada sobre plagas en otros cultivos frutales presentes en la región y que potencialmente podrían atacar al cerezo (tabla 2). La abamectina posee un efecto acaricida sobre el complejo de ácaros tetraníquidos, *Panonychus ulmi* (Koch), *Tetranychus urticae* (Koch) y *Bryobia rubrioculus* (Scheuten), y eriódidos (*Phytoptus pyri* y *Epytrimerus pyri*) en frutales de pepita. En el caso del cerezo, se ha registrado en la Norpatagonia el mismo complejo de ácaros tetraníquidos presente en frutales de pepita.

Los insecticidas benzoato de emamectina, lambdacialotrina, spinetoram y metomil fueron elegidos, por su acción de control sobre lepidóptero en general y tortricidos en par-

ticular (*Cydia molesta* (Busck) y enrolladores de hoja como *Argyrotaenia* sp.). Adicionalmente, lambdacialotrina y spinetoram fueron escogidos por su acción insecticida sobre *Drosophila suzukii* (Matsumura). Spinetoram, además, posee control sobre trips de las flores *Frankiniella occidentalis* (Pergande) y babosita del peral *Caliroa cerasi* (Linnaeus). A su vez el metomil y en menor medida la lambdacialotrina poseen actividad insecticida en *Scolytus rugulosus* (Müller). El spirotetramate fue considerado en esta oportunidad por su acción biocida sobre las cochinillas presentes en los árboles frutales de los valles de Río Negro y Neuquén, *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock), *Lepidosaphes ulmi* (Linnaeus) y *Pseudococcus viburni* (Signoret).

Localización

El estudio de la degradación de los seis insecticidas se realizó en un monte frutal de cereza cv "Lapins", ubicado en la localidad de Contralmirante Guerrico (Lat 39° 1'32.53"S - Long 67°44'26.38"O), prov. de Río Negro, con un marco de plantación de 4 x 2m, conducción en espaldera.

Diseño experimental

Se consideraron 6 tratamientos, cada uno representado por un insecticida específico (tabla 2). Cada tratamiento constó de 4 repeticiones, 1 planta por repetición.

Para realizar las aplicaciones se utilizó una pulverizadora a manguera con cuatro tanques con motor propio. Se tra-

Ingrediente activo	Marca comercial	Tolerancias por países (ppm)							
		UE	EE. UU. (1)	Gulf Corp. Council (2)	Hong Kong (3)	India	Singapur	Canadá (4)	China (5)
abamectina	Vertimec 8,4	0,01	0,05	0,07 (Codex)	0,09	0,07 (Codex)	0,07 (Codex)	0,09	0,07 (Códex)
benzoato de emamectina	Proclaim Forte	0,01	RST	NR (6)	RST	NR	NR	NR	RST
lambdacialotrina	Karate	0,3	0,5	0,3 (Codex)	0,3	0,3 (Codex)	0,3 (Codex)	0,5	0,3
spinetoram	Delegate	0,05	0,3	NR	RST	NR	NR	0,2	RST
spirotetramate	Movento	3	4,5	3 (Codex)	3	3 (Codex)	3 (Codex)	3	3,00 (Temp)
metomil	Lannate	0,01	RST	NR	RST	NR	2	0,1 (*)	0,20

Tabla 1. Límite Máximo de Residuos (LMRs) en ppm de los principales mercados de cereza de Argentina.

- (1) EUA: Registro Sin Tolerancia (RST) implica tolerancia "0" para el plaguicida en cuestión (EPA, 2017).
- (2) Gulf Corporation Council (Baréin, Kuwait, Omán, Catar, Arabia Saudita y los Emiratos Árabes Unidos). Cada país integrante del Consejo realiza el control de los contaminantes. Ante un activo con RST, aceptan en general las tolerancias Códex o de la Unión Europea cuando ellos no la poseen (CCEAG, 1994).
- (3) Hong-Kong. En los casos en que no se establecen LMR y se comprueba que un alimento contiene residuos de plaguicidas (RST), la importación y venta de dicho alimento solo se permite si el nivel detectado no es peligroso ni perjudicial para la salud. El organismo que se encarga de evaluar el riesgo teniendo en cuenta los patrones locales de consumo de alimentos y otros factores es el FEHD (Centre for Food Safety Food and Environmental Hygiene Department) (FEHD, 2012).
- (4) En Canadá aplica el límite por defecto de 0,1 ppm cuando un plaguicida tiene registro y no tiene tolerancia en el cultivo (RST) (PMRA, 2018).
- (5) China, ante un activo con RST, aplica el criterio de "categoría de alimento". Ej. en el caso de que un determinado insecticida tuviera registro en durazno, por ser un frutal de carozo, entrarían en la misma categoría que la cereza (NFSSMLPF, 2016).
- (6) NR: en todos los casos significa que no deben aparecer residuos del plaguicida especificado.

bajó a una presión de 200 lbs y el volumen de aplicación se calculó mediante el método del TRV, aplicando 1 l/10,67 m³ de copa de árbol.

Las pulverizaciones se realizaron 35 días antes del inicio de la cosecha, el día 4 de noviembre de 2016. Previo a

Principio activo	Producto comercial	Dosis/hl	Plaga para controlar
abamectina + aceite mineral de verano	VERTIMEC 8,4	11 cc	ácaros tetránquidos y eriófidos
	+ ELF 22	0,25%	
benzoato de emamectina	PROCLAIM FORTE 5SG	30 g	tortricidos
lamdacialotrina	KARATE 5CS	4 cc	tortricidos
			drosophilos
			minadores leño
spinetoram	DELEGATE 25WG	15 g	tortricidos
			drosophilos
			trips
spirotramate	MOVENTO 15 OD	70 cc	cochinillas en general
metomil	LANNATE 90 SP	60 g	tortricidos
			minadores leño

Tabla 2. Insecticidas seleccionados para determinar su declinación en el cultivo de cereza, cv Lapins.

estas se realizó un muestreo al azar de frutos con el objeto de confirmar la ausencia de residuo de agroquímicos en las plantas donde se realizaría el ensayo.

En la tabla 3 se detallan las fechas de muestreo para la determinación de la declinación de residuos para cada uno de los tratamientos. El primer muestreo se realizó a las 3 horas de efectuada la pulverización, cuando el residuo sobre las hojas y frutos estaba completamente seco.

Considerando la velocidad de declinación de residuos que estos insecticidas presentan en otros cultivos frutales de la región, se iniciaron los muestreos a los 7 días de la aplicación y se extendieron por 35 días en aquellos que presentaron una rápida degradación (abamectina, benzoato de emamectina y spinetoram) y 45 días para aquellos de velocidad más lenta (lamdacialotrina, spirotramate y metomil) (tabla 3).

En cada muestreo se cosechó, por cada repetición, un total de 1 kg de frutos. Estos fueron recolectados al azar, a distintas alturas y en las cuatro orientaciones. Luego fueron colocados en bolsas de papel kraft® y se trasladaron inmediatamente al laboratorio Centro de Investigación y Asistencia Técnica a la Industria, Asociación Civil (CIATI AC) convenientemente conservadas a 4 °C.

Metodologías de análisis

En el Laboratorio CIATI AC, las muestras fueron conservadas a -18 °C, hasta el momento del análisis según procedimientos vigentes.

Tratamiento	Muestreos						
	4-nov	11-nov	18-nov	28-nov	4-dic	9-dic	19-dic
abamectina Vertimec 8,4	Residuo Inicial	7 DDA	14 DDA	24 DDA	--	35 DDA	--
benzoato de emamectina Proclaim Forte SG 5%	Residuo Inicial	7 DDA	14 DDA	24 DDA	--	35 DDA	--
lamdacialotrina Karate Zeon	Residuo Inicial	--	14 DDA	--	30 DDA	--	45 DDA
spinetoram Delegate 25 WG	Residuo Inicial	7 DDA	14 DDA	24 DDA	--	35 DDA	--
spirotramate Movento 15 OD	Residuo Inicial	--	14 DDA	--	30 DDA	--	45 DDA
metomil Lannate 90 SP	Residuo Inicial	--	14 DDA	--	30 DDA	--	45 DDA

Tabla 3. Detalle de las fechas de muestreos realizados para la determinación de la declinación de residuos en cerezas. DDA: Días Después de la Aplicación.

Para su análisis se pesó la totalidad de las unidades que conformaban las muestras, se molieron en procesador de alimentos, luego se procedió a retirar los carozos registrando el peso de estos. Se tomó una alícuota de la molienda resultante para el análisis y lo restante se conservó como contramuestra en freezer a aproximadamente -18 °C.

Las determinaciones de residuos de lambdacialotrina se realizaron con el método RP 007 versión 1, basado en método QuECHERS, extracción/partición con acetonitrilo, limpieza mediante extracción dispersiva en fase sólida (d SPE) y RP 500 Rev. 8, determinación por cromatografía de gases con detector de masas-masas (GC-MS-MS) con un límite de cuantificación (LC) de 0,01 mg/kg y de detección (LD) de 0,005 mg/kg (European Standard, 2008).

Las determinaciones de residuos de abamectina, benzoato de emamectina, spinetoram, spirotetramate y metomil se realizaron con el método RP 007 versión 1, basado en método QuECHERS, extracción/partición con acetonitrilo, limpieza mediante extracción dispersiva en fase sólida (d SPE) y RP 779 Rev. 12, determinación por cromatografía líquida de alta resolución acoplada a detector de masas-masas (UPLC-MS-MS) (European Standard, 2008). El límite de cuantificación (LC) fue de 0,01 mg/kg y el de detección 0,005 mg/kg para los 5 plaguicidas estudiados.

RESULTADOS

En la fig. 1 se observa que a los 45 días los residuos de cuatro de los seis insecticidas estudiados resultaron no detectable. Solo el spirotetramate registra valores menores a 0,01 ppm y la lambdacialotrina a 0,03 ppm.

A los 14 días de la pulverización, los residuos en frutos de cereza, de los insecticidas abamectina, benzoato de emamectina y spinetoram, declinaron a valores inferiores a 0,01 ppm.

En el caso del metomil, a los 30 días de aplicado, el residuo resultó no detectable.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Por una parte, las aplicaciones de abamectina orientadas al control de ácaros fitófagos se realizan temprano en la temporada (hasta 2 o 3 semanas después de la caída de pétalos). En todos los cultivares de cereza presentes en la región de la Norpatagonia, correspondería a un período desde la aplicación a la cosecha, superior a los 40 días. Por otra parte, en todos los países importadores de cerezas argentinas considerados en el presente estudio, la abamectina posee tolerancias, siendo la más baja la co-

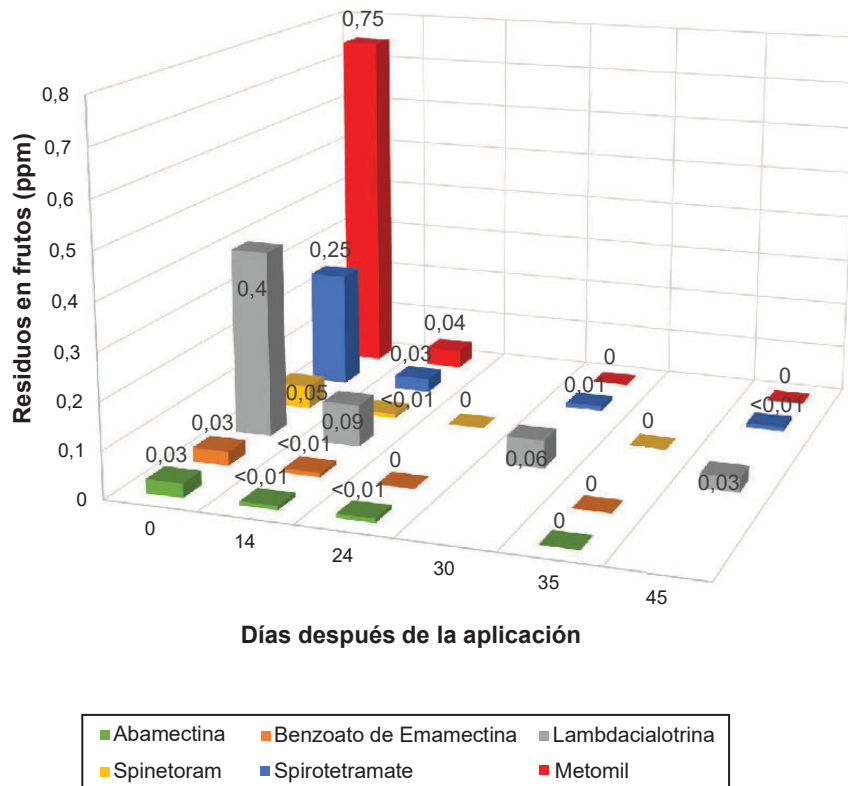


Figura 1. Resumen de los resultados de los análisis de residuos efectuados por el laboratorio CIATI sobre la matriz cereza.

respondiente a la Unión Europea con 0,01 ppm. Estos datos confirman que el uso adecuado de este insecticida no complicaría el intercambio comercial de ultramar.

En un gran número de cultivos frutales, el benzoato de emamectina se emplea para el control de tortricidos entre ellos *Cydia molesta*. Su empleo en el cultivo de cereza se restringiría a la primera generación de grafolita la cual se inicia a los 320 grafo-grados y se extendería por aproximadamente 20 días. Estas unidades fisiológicas se corresponderían con el período comprendido entre el 24 de setiembre y 7 de octubre. Una pulverización realizada en esa fecha tendrá un intervalo previo a cosecha superior a los 50 días. Los análisis realizados en el presente estudio indican que a los 24 días de la aplicación no se registraron residuos del insecticida. Por lo tanto, a pesar de poseer solo registro en la Unión Europea, su rápida degradación y el momento de uso avalarían su aplicación sólo en situaciones de extrema necesidad.

El metomil, también empleado para tortricidos y minadores del leño, posee pocos países con tolerancia, y en el caso de EE. UU. y Hong Kong dispone de RST y la Gulf Corp. Council e India, NR (tabla 1). La declinación de su residuo en fruta fresca es rápida, alcanzando valores ND a los 30 días (tabla 4).

Por una parte, el spirotetramate, empleado para el control de cochinillas en general, presenta una declinación de residuos más lenta, a los 45 días se detectaron residuos menores a 0,01 ppm. Sin embargo, posee tolerancias en todos los países considerados como potenciales compradores de cerezas argentinas. Por otra parte, las tolerancias son altas, siendo la más baja de 3 ppm. El uso de spirotetramate en cerezas no ocasionaría mayores inconvenientes comerciales.

La lambdacialotrina y el spinetoram son los dos insecticidas que se consideraron en el presente estudio por sus antecedentes en el control de drosophilos (Bruck *et al.*, 2011; Cuthberston *et al.*, 2014; Escudero Colomar, 2016). Ambos insecticidas poseen un comportamiento, en cuanto a su residualidad, muy diferente. Mientras que lambdacialotrina muestra una mayor persistencia de sus residuos en fruta, el spinetoram declina muy rápidamente. Sin embargo, la lambdacialotrina a los pocos días de ser aplicada (antes de los 14 días) alcanza la tolerancia más baja que es de 0,3 ppm. Mientras que el *spinetoram*, por ser una molécula relativamente nueva, no posee registro en la Gulf Corp Council, India y Singapur, en tanto que para Hong Kong y China tienen RST. Esta situación complica el uso del activo spinetoram cuando se decide exportar a alguno de estos últimos cinco países. Sin embargo, la spinosina A-D, de uso previo al spinetoran (spinosina J-L) tiene un espectro de registro más amplio.

Los problemas sanitarios de la producción de cerezas en la Norpatagonia son muy escasos y se reducen a incrementos puntuales de algunas poblaciones plaga. Sin embargo, la presencia de *Drosophila suzukii* en la región (Cichón *et al.*, 2015) puede cambiar el escenario descrito. En la actualidad, desde el período de envero hasta el

final de la cosecha, coincide con el inicio del aumento de la densidad poblacional de dicho díptero, no registrándose ataques de importancia. De todas maneras, se desconoce las posibles implicancias sanitarias de un incremento de la densidad de la población a nivel regional. Por esa razón, es importante poseer un mayor conocimiento sobre la eficacia y declinación de un número mayor de insecticidas, como así también su integración en diferentes estrategias de intervención que incluyan, además de los insecticidas, a la captura masal y a estrategias "pull and push" (Beers *et al.*, 2011; Wallingford *et al.*, 2018). El uso conjunto de estas herramientas tendría por objeto, además, disminuir la presión de selección de poblaciones resistentes, cosechar frutos libres de la plaga y con residuos de plaguicidas que permitan acceder a los mercados más competitivos.

En el diseño de las estrategias de intervención sanitaria en frutales se deben contemplar la eficacia de la herramienta química de control para emplear, su declinación en el tiempo y las exigencias del destino final de la fruta fresca. Cada país comprador de alimentos posee requerimientos relacionados con el registro y tolerancia de plaguicidas y restricciones ante la presencia de plagas cuarentenarias. En este último caso, no son aceptadas para la exportación cerezas con presencia de larvas de *D. suzukii*, por la contaminación propia del alimento, en este caso los frutos, o por problemas cuarentenarios como ocurre con Australia y Nueva Zelanda (Haviland y Beers, 2012).

Estos aspectos plantean un gran desafío para la producción de frutas frescas, en particular el de las cerezas argentinas, con destino a la exportación.

AGRADECIMIENTOS

A la CAPCI (Cámara Argentina de Productores Cereceros Integrados) por el intercambio de información y la colaboración para la ejecución de los análisis de residuos en frutas.

Al Senasa, por el aporte de información y apoyo constante de los Ing. Guillermo Rossi, Ricardo Sanchez y Esteban Rial.

BIBLIOGRAFÍA

BEERS, E.H.; VAN STEENWYK, R.A.; SHEARER, P.W.; COATES, W.W.; GRANT, J.A. 2011. Developing *Drosophila suzukii* management programs for sweet cherry in the western United States. *Pest. Manag. Sci. Nov.*, 67(11):1386-95.

BRUCK, D.J.; BOLDA, M.; TANIGOSHI, L.; KLICK, J.; KLEIBER, J.; DEFRANCECO, J.; GERDEMAN, B.; SPITLER, H. 2011. Laboratory and field comparisons of insecticides to reduce infestation of *Drosophila suzukii* in Berry crops. *Pest Management Science* 67:1375-1385.

CCEAG. 1994. Consejo de Cooperación para los Estados Árabes del Golfo. Standardization Organization for GCC (GSO) GSO 382/1994 and 383/1994). (Disponible: https://www.sfda.gov.sa/ar/food/about/administration/management_regulations/Documents/382.383%20E.pdf verificado: 15 de enero de 2018).

CICHÓN, L.; GARRIDO, S.; LAGO, J. 2015. Primera detección de *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1939) (Diptera: Drosophilidae) en frambuesas del Valle de Río Negro, Argentina. Libro de Re-

súmenes del IX Congreso Argentino de Entomología, Posadas, Misiones. 270 p.

CICHON, L.; GARRIDO, S.; LAGO, J. 2016. *Drosophila suzukii*. Una nueva plaga presente en la Norpatagonia. Ediciones INTA. 14 p.

CUTHBERTSON, A.G.S.; COLLINS, D.A.; BLACKBURN, L.F.; AUDSLEY, N.; BELL, H.A. 2014. Preliminary Screening of Potential Control Products against *Drosophila suzukii*. *Insects* 5:488-498.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). 2017. Code of Federal Regulations (CFR), Title 40 (Protection of Environment), Part 180: Tolerances and Exemptions from Tolerances for Pesticide Chemicals in Food. Section 408 of the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (FFDCA).

ESCUADERO COLOMAR, L.A. 2016. Métodos de control para *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae); una nueva plaga de frutales que se está extendiendo mundialmente. *Rev. Agron. Noroeste Argent.* 36(1): 19-31.

EUROPEAN STANDARD. 2008. EN15662. Foods of plant origin - Multimethod for the determination of pesticide residues using GC and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE - Modular QuEChERS-method. (Disponible: https://www.en-standard.eu/csn-en-15662-foods-of-plant-origin-determination-of-pesticide-residues-using-gc-ms-and-or-lc-ms-following-acetonitrile-extraction-partitioning-and-clean-up-by-dispersive-spe-quechers-method/?gclid=EAlalQobChMII47076Lv2QIVIoSRCh0mXA2pEAAAYASAAEgK_MfD_BwE verificado: 25 de enero de 2018).

FEHD, 2012. Centre for Food Safety Food and Environmental Hygiene Department. Legal Notice Number 73 of 2012 Gazette Published on Friday, 04/05/2012, N.º 18 Vol. 16. Legal Supplement

N.º 2. (Disponible: http://www.cfs.gov.hk/english/whatsnew/whatsnew_fstr/whatsnew_fstr_21_Pesticide.html verificado: 13 de enero de 2019).

HAVILAND, D.R.; BEERS, E.H. 2012. Chemical control programs for *Drosophila suzukii* that comply with international limitations on pesticide residues for exported sweet cherries. *J. Integr Pest Manag.* 3 (2): F1-F6. DOI: <https://doi.org/10.1603/IPM11034>

IDIGORAS, G. 2014. Producción y procesamiento de productos frutihortícolas. Documento de referencia. Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación Productiva. 81 pp.

NATIONAL FOOD SAFETY STANDARD FOR MAXIMUM RESIDUE LEVEL OF PESTICIDES IN FOODS (NFSSMLPF). 2016. (GB2763-2016). (Disponible: <https://food.chemlinked.com/epublication/ebook/gb-2763-2016-national-food-safety-standard-maximum-residue-limits-pesticides-food> verificado: 19 de enero de 2019).

PEST MANAGEMENT REGULATORY AGENCY (PMRA). 2018. Health Canada-Section B.15.002(1) of Canada's Food and Drug Regulations (Disponible: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/consumer-product-safety/pesticides-pest-management/public/protecting-your-health-environment/pest-control-products-acts-and-regulations-en.html> verificado: 22 de enero de 2018).

SENASA. 2016. Anuario estadístico 2016. Centro Regional Patagonia Norte. 148 p. (Disponible: http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/SENASA%20COMUNICA/adjuntos_varios/anuario_estadistico_2016_crpn.pdf verificado: noviembre de 2017).

WALLINGFORD, A.K.; CHA, D.H.; LOEB, G.M. 2018. Evaluating a push-pull strategy for management of *Drosophila suzukii* Matsumura in red raspberry. *Pest Management Science* 74: 120-125.

Hongos endófitos en festuca alta: del problema a las soluciones

PETIGROSSO, L.R.¹; GUNDEL, P.E.²; COLABELLI, M.N.¹; FERNANDEZ, O.N.¹; ASSUERO, S.G.¹

RESUMEN

Festuca alta, *Schedonorus arundinaceus* (Schreb.) Dumort, es una de las gramíneas perennes templadas más sembradas en Argentina, tanto en pasturas puras como en mezclas. Entre las principales cualidades agronómicas de esta especie se destacan su alta productividad, rusticidad, plasticidad y perennidad. Las plantas de festuca alta suelen estar infectadas por un hongo endófito asexual, *Epichloë coenophiala*, que es asintomático y solo se propaga vía semillas infectadas (transmisión vertical). Si bien el hongo les confiere ventajas adaptativas a las plantas hospedantes, también puede sintetizar metabolitos tóxicos para el ganado en pastoreo. Estos metabolitos provocan diferentes síndromes denominados, en general, *festucosis*, que ocasionan importantes pérdidas en la producción ganadera. En esta revisión se describen, en primer lugar, la gramínea festuca alta, el hongo endófito, su interacción y los efectos perjudiciales que originan el consumo de festuca alta infectada en los herbívoros domésticos. Posteriormente, se analizan los mecanismos que explican el avance de la incidencia de festuca alta infectada en pasturas libres de endófito y se indican algunas estrategias de manejo más comunes empleadas en los sistemas de producción ganadera para mitigar los efectos negativos del endófito sobre los animales. Se presenta información obtenida tanto a nivel local, como internacional, y se señalan áreas que presentan vacíos de información, cuyo conocimiento es necesario para mejorar el manejo productivo de esta asociación.

Palabras clave: *Schedonorus arundinaceus*, *Epichloë coenophiala*, asociación hongo-gramínea, festucosis, avance de la infección endofítica.

ABSTRACT

Tall fescue, *Schedonorus arundinaceus* (Schreb.) Dumort, is one of the most sown perennial temperate grasses in Argentina, both in pure and mix pastures. The main agronomic qualities of this species are its high productivity, rusticity, plasticity and perennity. Tall fescue plants are usually infected by an asexual endophytic fungus, *Epichloë coenophiala*, which is asymptomatic and only the fungus propagates via infected seeds (vertical transmission). Although the fungus confers adaptive advantages to host plants, it can also synthesize toxic metabolites for grazing cattle. These metabolites cause severe health problems and significant losses in livestock production. In this review, it is described the grass species, the endophyte fungus, the interaction between them, and the harmful effects on domestic herbivores by consuming infected tall fescue plants of infected tall fescue in endophyte-free pastures are analyzed and some of the management strategies used to

¹Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias, Ruta 226 km 73,5, 7620, Balcarce, Argentina. Correo electrónico: lpetigrosso@mdp.edu.ar; colabelli.mabel@gmail.com; onf4038@gmail.com; sassuero@mdp.edu.ar

²Universidad de Buenos Aires (UBA), Instituto de Investigaciones Fisiológicas y Ecológicas Vinculadas a la Agronomía (IFEVA), CONICET, Facultad de Agronomía, Buenos Aires, Argentina. CONICET. Correo electrónico: gundel@agro.uba.ar

mitigate the negative effects of the endophyte on livestock production systems are indicated. Local and international information is shown, and knowledge gaps necessary to improve the productive management of this association are identified.

Keywords: *Schedonorus arundinaceus*, *Epichloë coenophiala*, fungus-grass association, festucosis, endophytic infection spread.

INTRODUCCIÓN

Festuca alta, *Schedonorus arundinaceus* (Schreb.) Dumort [Syn. *Festuca arundinacea* Schreb., *Lolium arundinaceum* (Schreb.) S.J. Darbyshire, *Schedonorus phoenix* (Scop.) Holub], es una gramínea perenne originaria de Europa continental, de la región Mediterránea, incluyendo el norte de África y parte de Medio Oriente, Asia central y Siberia (Hannaway *et al.*, 1999; Fribourg y Hannaway, 2007; Hopkins *et al.*, 2009). En la región Pampeana argentina se ha naturalizado exitosamente y contribuye a aumentar significativamente la receptividad de los sistemas pastoriles por su gran producción y valor forrajero (Mazzanti *et al.*, 1992; Lattanzi *et al.*, 2007; Scheneiter *et al.*, 2016). Sin embargo, *festuca alta* puede presentar un factor de anticalidad que afecta negativamente la productividad secundaria de los sistemas ganaderos. Esta condición se debe a que generalmente establece una asociación simbiótica con hongos endófitos foliares del género *Epichloë* (Leuchtman *et al.*, 2014). Estos hongos endófitos producen alcaloides tóxicos con efectos negativos sobre los animales en pastoreo (Bacon *et al.*, 1977; Hoveland, 1993). En ese sentido, diversos relevamientos han indicado que las poblaciones de *festuca alta* de la región Pampeana presentan niveles de infección cercanos al 100% (Colabelli *et al.*, 2006; Gundel *et al.*, 2009a; Petigrosso *et al.*, 2013). En este trabajo de revisión se presenta inicialmente una breve descripción histórica de la relación entre *festuca alta* y el hongo endófito en relación con la producción ganadera. Además, se analizan los aspectos positivos y negativos de la simbiosis sobre las plantas, los aspectos epidemiológicos de la infección y, finalmente, se mencionan algunas de las estrategias de manejo más comunes empleadas en los sistemas de producción ganadera para mitigar los efectos negativos del endófito sobre los animales. A modo de conclusión, se señalan áreas con vacíos de información cuyo conocimiento es necesario para la comprensión y manejo productivo de esta asociación.

Características e importancia agronómica de *festuca alta*

Festuca alta es una gramínea perenne, de metabolismo C_3 y hábito de crecimiento cespitoso que, caracterizada por un ciclo de crecimiento otoño-invierno-primaveral, es cultivada para uso forrajero en ambientes templado-húmedos y subhúmedos de todo el mundo (Mazzanti *et al.*, 1992;

Gibson y Newman, 2001). En la actualidad se encuentra ampliamente difundida ya que ha sido comercialmente introducida en América del Norte, América del Sur y en Oceanía (Hannaway *et al.*, 1999; Fribourg y Hannaway, 2007). En Argentina, *festuca alta* es uno de los componentes más importantes de las comunidades de pastizales (Sala *et al.*, 1986) y una de las gramíneas más utilizadas en las pasturas implantadas abarcando más del 30% del total del área cultivada (3.500.000 ha). Comparativamente, ocupa en Uruguay más del 70% de las 500.000 ha dedicadas a la ganadería (Milne, 2009).

El germoplasma de *festuca alta* es complejo y heterogéneo. Según Jauhar (2012) sería un agregado de taxones poliploides que van desde tetraploides ($2n=4x=28$) a decaploides ($2n=10x=70$). En función de la ploidía, los taxónomos la clasifican en cinco variedades botánicas: *glaucescens* Boiss (tetraploide), genuina Schreb. (hexaploide), *atlantigena* (St.-Yves) Auquier (octaploide), *cirtensis* (St.-Yves) J. Gamisans (decaploide) y *letourneuxiana* (St.-Yves) Torrecilla & Catalán (decaploide) (Cuyeu *et al.*, 2013). Todas ellas presentan gran variabilidad en caracteres citogenéticos, morfológicos y de crecimiento que permiten, a su vez, reconocer tres morfotipos: "Continental", "Mediterráneo" y "Rizomatoso" (Hand *et al.*, 2010). Las variedades de tipo Continental provienen de germoplasma originario de regiones templado-húmedas y se caracterizan por presentar producción primavera-estivo-otoñal. Predominan en el norte de Europa y han sido objeto de la mayoría de los estudios de *festuca alta* publicados (Hand *et al.*, 2010). Un ejemplo de ellos es el cultivar nacional "El Palenque", que se caracteriza por presentar un patrón de crecimiento con dos picos, uno en primavera y otro en otoño (Mazzanti *et al.*, 1992). El morfotipo Mediterráneo es originario del norte de África, parte de Italia y Medio Oriente, es inactivo en el verano y presenta mayor crecimiento en invierno (Delgado y Tanco, 1980; Reed *et al.*, 2004). El morfotipo Rizomatoso predomina en el norte de Portugal y España (Galicia) y se distingue de los anteriores, además de taxonómicamente, por presentar una significativa producción de rizomas (Jernstedt y Bouton, 1985).

Entre las principales cualidades agronómicas de *festuca alta* se destacan su alta productividad, alta palatabilidad (en comparación con la mayoría de las gramíneas nativas), perennidad y plasticidad fenotípica frente a un amplio rango de condiciones climáticas y edáficas. Es un

recurso forrajero que, manejada adecuadamente, puede llegar a generar ganancias de peso en los animales del orden de los 0,5 a 0,8 kg de peso vivo (PV) por día (Lattanzi *et al.*, 2007).

Características del hongo endófito

Dentro del género *Epichloë*, se identifican especies con fase sexual (telemórfica) y otras con fase asexual (anamórfica) (Clay y Schardl, 2002; Selosse y Schardl, 2007). Las primeras se encuentran únicamente en especies de plantas del hemisferio norte. Estos endófitos pueden producir estromas con peritecios que suprimen el desarrollo de las panojas y de las espigas (estrangulamiento) y provocan la esterilidad total o parcial de las plantas (Selosse y Schardl, 2007). Las ascosporas producidas en los peritecios serían las responsables de la transmisión horizontal, mecanismo por el cual se infectan nuevos individuos (Chung y Schardl, 1997). No obstante, algunas especies de reproducción sexual pueden ser transmitidas verticalmente a través de las semillas infectadas (Selosse y Schardl, 2007; Leuchtman y Oberhfer, 2013). Las especies asexuales, en cambio, solo se transmiten verticalmente mediante la colonización de los ovarios de las flores y el crecimiento en la semilla en desarrollo (Schardl *et al.*, 2004; Selosse y Schardl, 2007; Gundel *et al.*, 2011).

El hongo *Epichloë coenophiala* (Leuchtman *et al.*, 2014), anteriormente clasificado como *Neotyphodium coenophialum* Glenn, Bacon & Hanlin (= *Acremonium* Link Sección Albo-lanosa Morgan-Jones; Gams), es específico de festuca alta. Pertenecer al Phylum *Ascomycota*, Familia *Clavicipitaceae*, Tribu *Balansiae*, Sección *Albo-lanosa* (Glenn *et al.*, 1996). Este hongo desarrolla su ciclo de vida dentro de la planta huésped, no produce síntomas de enfermedad, ni forma estructuras reproductivas externas (Clay y Schardl, 2002; Roberts *et al.*, 2005). Es un hongo que se transmite únicamente a través de la semilla de su hospedante (ej., transmisión vertical) y no se dispersa por esporas ni por el polen de las plantas infectadas (White *et al.*, 1993; Clay y Schardl, 2002). El hongo endófito se localiza intercelularmente y crece en el apoplasto y se nutre de los azúcares y compuestos nitrogenados que allí se encuentran (Bacon, 1993). El micelio del endófito se halla estrechamente asociado a los elementos vasculares y meristemas del hospedante (Belesky *et al.*, 1989; Christensen *et al.*, 2008), es abundante entre las células de la vaina de las hojas y presenta baja densidad en la lámina foliar (White *et al.*, 1993). Su presencia en los meristemas favorece la transmisión a los puntos de multiplicación vegetativos (ej., macollos) y reproductivos (Christensen *et al.*, 2008; Gundel *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2017).

Por un lado, se ha demostrado que la dinámica de crecimiento de los hongos endófitos *Epichloë* sigue la estacionalidad de crecimiento y desarrollo de la planta hospedante. De esta manera, presenta menor cantidad de hifas en invierno, cuando la tasa de crecimiento de la planta hospedante es menor, y densidades mayores de hifas en primavera-verano, cuando ocurre el pico de producción y

reproducción del hospedante (Di Menna y Waller, 1986; Ball *et al.*, 1995). Un individuo infectado puede dar origen a semillas no infectadas debido a fallas en la transmisión (Afkhani y Rudgers 2008; Gundel *et al.*, 2011). Por otro lado, se ha documentado que el endófito presenta mayor tasa de pérdida de viabilidad que las semillas que lo portan, por lo tanto, es posible obtener plántulas libres de endófito a partir de semillas infectadas con endófito no viable (Welty *et al.*, 1994; Gundel *et al.*, 2010). Los distintos procesos hasta aquí expuestos pueden ser modulados por factores bióticos y abióticos, contribuyendo así a explicar la existencia de la variabilidad observada en la frecuencia de individuos infectados en las poblaciones de gramíneas (Gundel *et al.*, 2009a; Semmartin *et al.*, 2015).

Asociación planta-hongo

Aunque la simbiosis es facultativa para las plantas (es decir, que las plantas pueden vivir sin el endófito), la asociación gramínea-endófito es considerada de tipo simbiótico-mutualista (Siegel *et al.*, 1987; Clay y Schardl 2002; Selosse y Schardl, 2007; White y Torres, 2009; Omacini *et al.*, 2013). Por un lado, los endófitos se benefician de la asociación al obtener nutrición y dispersión, pero su supervivencia y multiplicación depende fuertemente de la aptitud ecológica de la gramínea hospedante (Siegel *et al.*, 1987; Gundel *et al.*, 2008). Por el otro, entre los beneficios que obtienen las plantas colonizadas se pueden mencionar mayores tasas de crecimiento, tolerancia a heladas y sequías, y resistencia al estrés por déficit de nitrógeno y fósforo (Burns y Chamblee, 1979; Clay, 1988; Arachevaleta *et al.*, 1989; De Battista, 1989; Lyons *et al.*, 1990; Richardson *et al.*, 1993; Elmi y West, 1995; Malinowski y Belesky, 2000; Bouton *et al.*, 2001; Schardl *et al.*, 2004; Ren *et al.*, 2007). Asimismo, el mutualismo brindaría a la planta una mayor resistencia a nematodos (West y Gwinn, 1993), insectos (Latch *et al.*, 1985; Arnold *et al.*, 2003), y a un amplio espectro de herbívoros vertebrados e invertebrados (Cheplick y Clay, 1988; Edwards *et al.*, 1993; Penrose *et al.*, 2000; Cosgrove *et al.*, 2002; Schardl, 2010; Saikkonen *et al.*, 2013). Estas ventajas mejorarían el desempeño de esta forrajera en suelos marginales. Sin embargo, la bibliografía indica que los efectos del endófito sobre la aptitud ecológica de plantas hospedantes dependen de la constitución genotípica de la asociación planta hospedante-hongo endófito, y del contexto ecológico ambiental (ej. historia de uso del suelo, variables climáticas, disponibilidad de nutrientes (Hill *et al.*, 1990; Omacini *et al.*, 2005; Müller y Krauss, 2005; Saikkonen *et al.*, 2006). De hecho, bajo ciertas condiciones ambientales se han observado efectos negativos sobre el crecimiento de las plantas (Cheplick y Faeth, 2009).

Problemática del consumo de festuca infectada por herbívoros domésticos

Los endófitos producen y dotan a las plantas de una serie de compuestos secundarios dentro de los cuales los más estudiados son los alcaloides. Las principales mico-

toxinas generadas por asociación de la planta y el endófito son los ergocalcoides, los indol-diterpenos, la peramina y las lolinas (Saikkonen *et al.*, 2013; Schardl *et al.*, 2013). Las peraminas y las lolinas son potentes alcaloides contra insectos, mientras que los indol-diterpenos y los ergocalcoides son conocidos por causar intoxicaciones en mamíferos (Saikkonen *et al.*, 2013; Schardl y Phillips, 1997). Los ergocalcoides más potentes producidos por las diferentes especies de endófitos, tanto en términos de intensidad como de duración del efecto tóxico que provocan, son la ergovalina y la ergotamina (Evans *et al.*, 2012). La primera es el principal ergocalcoide producido por el hongo endófito *E. coenophiala* (Foote *et al.*, 2011).

En la ganadería bovina se han identificado tres tipos de síndromes clínicos relacionados con el consumo de forraje o semillas de festuca alta infectados con hongo endófito: "síndrome gangrenoso o pie de festuca" en invierno (Jacobson *et al.*, 1969), "asoleamiento o síndrome distérmico" en primavera-verano, y "necrosis grasa del bovino" (Stuedemann y Hoveland, 1988). El síndrome distérmico es el que más pérdidas económicas ocasiona (Schmidt y Osborn, 1993; De Battista *et al.*, 1995), y se caracteriza porque la cobertura de pelo áspero en los animales en el invierno se mantiene sin desprenderse y se decolora por la acción del sol durante el verano. En consecuencia, la temperatura corporal se eleva, se observa salivación excesiva y el ganado pasa más tiempo recluso en la sombra o dentro de bañados o cursos de agua y lagunas durante el día y menos tiempo consumiendo forraje (Stuedemann y Hoveland, 1988). Otros signos que pueden observarse incluyen nerviosismo, frecuencia respiratoria aumentada, retraso en la pubertad y disminución en las tasas de concepción (Strickland *et al.*, 2011). Se cree que la disminución en las tasas de preñez en bovinos ocurre durante el período embrionario y generalmente no se asocia con abortos ni con nacimientos de terneros muertos (Thompson *et al.*, 1993). Bence *et al.* (2016a, b) evaluaron, durante la segunda mitad de la gestación de vacas Aberdeen Angus, los efectos clínicos y productivos asociados al consumo de pasturas con predominio de festuca alta infectada con endófito. Según estos autores, el consumo de festuca infectada en ese período se asoció a alteraciones clínicas y productivas leves (ej. mayor frecuencia respiratoria y temperatura rectal, menor peso vivo), pero no se hallaron diferencias clínicas, morfométricas ni productivas en las crías. En el caso del síndrome pie de festuca, los animales presentan gangrena en las extremidades, manifestándose con cojera, y en casos extremos hasta la pérdida de la pezuña, pudiendo también ocurrir gangrena en la punta de las orejas y en la cola (Jacobson *et al.*, 1969). Esta patología se presenta cuando los animales se encuentran pastoreando festuca durante los meses de invierno, y en ambientes de baja temperatura (Evans *et al.*, 2012). El síndrome de necrosis grasa o lipomatosis se caracteriza por la presencia de masas duras o necróticas en tejidos adiposos de la cavidad abdominal, lo que provoca problemas digestivos y distocias durante el nacimiento, que en algunas situaciones causa la muerte por estrangulación intestinal del feto (Stuedemann y Hoveland, 1988; Evans *et al.*, 2012).

El riesgo y la severidad de la intoxicación de los animales con festuca alta infectada, independientemente del tipo de síndrome, aumentan en la medida que el porcentaje de plantas infectadas (E+) es mayor y la pastura presente un bajo grado de diversidad de especies. La dosis tóxica de ergocalcoide es de aproximadamente 0,3 a 0,5 mg kg⁻¹ PV (Tor Agbide *et al.*, 2001) y es necesario, en general, un tiempo de exposición de aproximadamente 14 a 21 días para la aparición de los signos (Jessep *et al.*, 1987; Schneider *et al.*, 1996). De todas formas, la observación de los signos clínicos en los animales depende de la especie/raza animal, el estado fisiológico y de las condiciones ambientales (Evans *et al.*, 2004a, b).

En nuestro país los antecedentes de diagnósticos de festucosis en bovinos se remontan al año 1972, cuando el Grupo de Patología de la EEA Balcarce del INTA efectuó el primer diagnóstico de festucosis (Campero, 1996). A través de los años, diferentes estudios de la calidad comercial de semillas de festuca alta han señalado que la semilla de esta especie no reunía los requisitos de calidad impuestos por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca en su Resolución del año 1988 (Peretti y Escuder, 1990; Bazzigalupi *et al.*, 2009). Por esta razón, frente al gran riesgo de festucosis en nuestro país, el Instituto Nacional de Semillas (INASE) sancionó en el año 1995 la Resolución N° 67/95 vigente actualmente, en la cual se establecen umbrales de tolerancia de presencia de endófitos en las semillas comerciales. Para la clase identificada el porcentaje máximo de tolerancia de infección para la comercialización de semillas de festuca alta es del 5% (semilla expuesta al público o entregada a usuarios a cualquier título, que cumple con los requisitos del artículo 9 de la Ley de Semillas y Creaciones Filogenéticas del INASE, Ley 20.247). Para la clase fiscalizada (semilla que cumple con los requisitos exigidos para la simiente identificada, y está sometida a control oficial durante las etapas de su ciclo de producción) esa tolerancia baja a 1% para semilla *original* y a 3% para las primeras tres generaciones de multiplicación. Es importante también mencionar que a partir del año 2007 (Resolución N° 217/2007 del INASE), solo se puede comercializar dentro del circuito legal semilla fiscalizada en las especies perennes, por lo que desaparece la clase identificada.

En Argentina, las pérdidas económicas debidas a la reducción en la ganancia de peso de los animales fueron estimadas para el año 1995 en aproximadamente USD 54 millones por año (De Battista *et al.*, 1995). En Estados Unidos de Norteamérica el endófito está presente en más del 75% de las pasturas de festuca alta (Ball *et al.*, 1993; Clay *et al.*, 2005) y se han estimado pérdidas económicas comprendidas entre los USD 600 y los USD 1.000 millones por año en la producción ganadera dependiendo de que en la estimación se incluyan o no las pérdidas correspondientes a los equinos y rumiantes pequeños (Hoveland, 1993; Strickland *et al.*, 2011). En España y en el resto de Europa, los informes sobre toxicidad en ganado asociada a endófitos en festuca alta son inexistentes o muy escasos (Raynal, 1991; Oliveira *et al.*, 1996). Esto podría deberse a que la alimentación del ganado es más variada que en los

países donde se ha observado el problema, en los cuales las pasturas de festuca alta y raigrás perenne constituyen la base casi exclusiva de la alimentación del ganado (Zabalgogea *et al.*, 1998).

Mecanismos de contaminación de pasturas de festuca libre de endófito

Si bien en Argentina existen investigaciones y asesoramiento técnico sobre el manejo y control de pasturas de festuca alta infectada con endófito (ver Estrategias de manejo de pasturas con festuca infectada con hongo endófito), en los últimos años se ha registrado un creciente número de reportes de casos de intoxicación con festuca infectada en la Cuenca del Salado (Elizalde y Riffel, 2015;

Cantón *et al.*, 2016; García *et al.*, 2017; Odriozola, comunicación personal). En este sentido se ha observado que pasturas de festuca alta sembradas con semilla libre de endófito son susceptibles a la invasión por plantas infectadas procedentes de la resiembra natural. Así, Shelby y Dalrymple (1993) encontraron que pasturas libres de hongo endófito al momento de su siembra incrementaron el nivel de infección a razón de 4% por año, en un período de 9-12 años de estudio. Producida la invasión, la rapidez del aumento de la proporción de plantas E+ dependería de condiciones ambientales del suelo (ej. tipo de suelo, fertilidad, humedad, relieve) y del impacto de poblaciones de insectos o nematodos (Hill *et al.*, 1998; Spyreas *et al.*, 2001). Aunque aún es insuficiente la información disponible para establecer las causas del aumento persistente de la

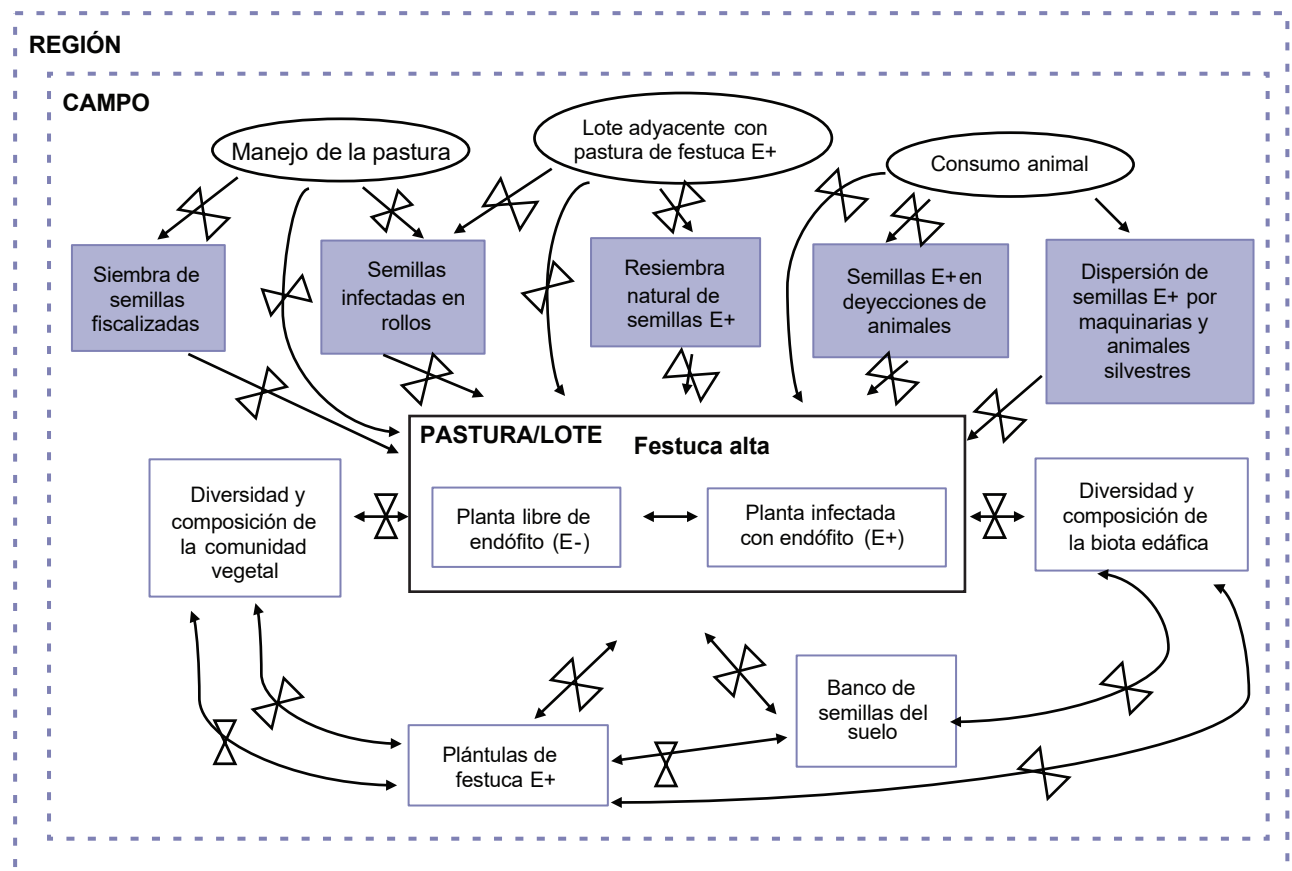


Figura 1. En una pastura de festuca alta con plantas infectadas (E+) y libres de endófito (E-), en estado vegetativo, los animales pueden consumir (Consumo animal) ambos tipos de plantas, pero en general, muestran cierta preferencia por las E-. Ello puede conllevar a que algunas plantas E+ superen en biomasa y producción de semillas a las E-, cuestión que puede verse agravada por un mal manejo (Manejo de la pastura). Las plantas E+ producirán semillas E+ que al no ser consumidas por herbívoros vertebrados e invertebrados ("protección frente a granívoros") permanecerán en el banco de semillas del suelo con el hongo endófito (Banco de semillas del suelo). En condiciones ambientales adecuadas, estas semillas E+ germinarán y darán origen a plántulas de festuca alta E+, con el concomitante incremento de la densidad de plantas infectadas en la pastura. Este ciclo de contaminación será mayor si se suman las semillas E+ provenientes de otros lotes adyacentes, dispersadas por el viento, animales silvestres, maquinarias, o por el suministro de rollos que contengan semilla E+. De esta manera, se explicaría el rápido incremento del porcentaje de infección en una pastura sembrada con semilla fiscalizada (ej. menos del 5% de infección). Producida la invasión, la rapidez con que la proporción de plantas E+ aumenta dependerá de la diversidad y de la composición de la comunidad vegetal y biota edáfica. Las llaves de control de flujo indican que la relación entre los estados pueden ser modulados por distintos factores o interacciones biológicas. Así, la tasa de aumento de la invasión dependerá del grado de contaminación de las pasturas adyacentes, de la producción diferencial de biomasa y de semillas de plantas E+ y E-, de la preferencia animal y del manejo de la pastura.

infección de las plantas con endófito en las pasturas, estas variables ambientales podrían actuar como factores de presión de selección a favor de la simbiosis.

Dado que el hongo que infecta a festuca solo se reproduce en forma asexual y se transmite por semilla (White, 1988; Clay, 1990; Clay y Schardl, 2002), el aumento de la frecuencia de plantas E+ en pasturas puras o polifíticas implantadas con semilla de festuca libre de endófito podría explicarse por diferencias en la producción de biomasa y semillas de plantas libres e infectadas, variaciones en la eficiencia de transmisión, y a migraciones de semillas E+. Así, los mecanismos conocidos de contaminación con endófito de pasturas libres pueden obedecer a varias causas (figura 1): a) establecimiento de plantas originadas a partir de semillas provenientes de resiembra natural de lotes de festuca E+ con inadecuado manejo del pastoreo en primavera (Shelby *et al.*, 1989; Thompson *et al.*, 1989); b) dispersión de semillas por suministro de rollos confeccionados con forraje de pasturas de festuca E+ (Barker *et al.*, 2005); c) dispersión de semillas E+ por la maquinaria agrícola o bien por animales domésticos y silvestres (Shelby y Schmidt, 1991); d) rebrote de rizomas de plantas E+ (Defelice y Henning, 1990); e) otras causas (ej.: semillas del banco del suelo, Fernández *et al.*, 2007; uso de semillas no fiscalizadas; diseminación por heces de semillas E+ que sobreviven al pasaje del tracto digestivo, Burggraaf y Thom, 2000; Vignolio y Colabelli, 2008). La combinación de diferentes mecanismos de contaminación con endófito en pasturas libres del hongo, explicarían altas tasas de expansión de su incidencia y los altos niveles de infección que normalmente se encuentran en los lotes de festuca (Shelby y Dalrymple, 1987; Gundel *et al.*, 2009a; Petigrosso *et al.*, 2013).

Estrategias de manejo de pasturas con festuca infectada con hongo endófito tóxico

Existen diferentes estrategias de manejo de pasturas de festuca alta infectadas con endófitos tóxicos. Unas buscan reducir la severidad de la sintomatología de la festucosis sobre los animales en pastoreo, y otras erradicar las pasturas infectadas a través de la implantación de nuevas pasturas libres de endófito. Sin embargo, no siempre es posible de aplicar estas prácticas, en algunos casos debido a limitaciones tecnológicas y, en otros, porque resultan económicamente inviables. De todos modos, antes de planificar una estrategia de manejo o iniciar cualquier acción, es necesario conocer la proporción de la pastura representada por festuca alta infectada para evaluar el grado de toxicidad potencial para los animales.

Las principales estrategias de manejo de pasturas orientadas a disminuir el impacto negativo de la festuca infectada con endófito sobre la producción ganadera son (figura 2):

a. Intensidad de consumo como manejo estratégico de las pasturas con festuca alta infectada con endófito tóxico. Es recomendable realizar defoliaciones a través de pastoreo o cortes mecánicos para evitar el pasaje de las plantas de festuca al estado reproductivo y, con-

comitantemente, la producción de semillas infectadas. Un inadecuado manejo del pastoreo en primavera permitiría la resiembra natural de festuca infectada contribuyendo así al aumento del porcentaje de infección de la pastura. En el caso de usar animales, se sugiere implementar un pastoreo con altas cargas instantáneas sobre la pastura para evitar tanto la selección por parte del animal como que algunas plantas lleguen a encañar. El tiempo de pastoreo no debería superar los 4 o 5 días de consumo, dado que en períodos más prolongados se podrían evidenciar síntomas de intoxicación (Odriozola, 1993, 2002; Evans *et al.*, 2012). En el caso de realizar cortes mecánicos, se aconseja que se efectúen con una frecuencia alta con el objetivo de disminuir la producción de panojas y semillas, permitiendo de este modo que los animales consuman mayoritariamente láminas foliares (Borrajo, 2015; Petigrosso *et al.*, 2019b). Por un lado, se ha reportado que mediante la aplicación de las Buenas Prácticas de Manejo de Pasturas (Agnusdei y Di Marco, 2014) en pasturas de festuca alta infectada se logra disminuir el porcentaje de floración y se reduce la concentración de ergovalina de estas en primavera (Borrajo *et al.*, 2018). Por otro lado, algunos autores encontraron resultados transitorios en la erradicación de pasturas de festuca infectada con endófito usando glifosato (herbicida total de amplio espectro) solo o combinado con otros herbicidas variando las épocas de aplicación y dosis (Hoveland *et al.*, 1986; Bagegni *et al.*, 1994; Hill *et al.*, 2010; Casal *et al.*, 2016). Sin embargo, esta práctica es transitoria debido a que la población de festuca se restablece, tanto en la pastura como en el pastizal (Defelice y Henning, 1990). En tal sentido, es posible especular que dicho restablecimiento se debe a las semillas presentes en el banco del suelo que al eliminar con el herbicida a las plantas de la comunidad vegetal se reduce la competencia, facilitando el establecimiento las plántulas de festuca (Madison *et al.*, 1994; Washburn y Barnes, 2000). Así, Fernández *et al.* (2007) encontraron que la remoción del horizonte superficial (0 a 5 cm) del suelo a través del desarraigo del material vegetal en pasturas infectadas promueve la germinación y emergencia de plántulas de festuca que conservan la viabilidad del endófito. Finalmente, investigaciones recientes han mostrado que es posible limitar la formación de inflorescencias y producción de semillas en pasturas de festuca E+ mediante el uso de herbicidas como el metsulfuron (Trevor *et al.*, 2016).

b. Manejo de los tiempos de consumo en pasturas con festuca alta infectada con endófito tóxico. Se recomienda evitar el pastoreo de festuca alta con endófito tóxico durante los meses de verano debido a las altas temperaturas y a la mayor concentración de ergovalina en la planta (Evans *et al.*, 2012). De no ser posible, se recomienda fuertemente brindar acceso al agua y proveer sombra a los animales para evitar el estrés térmico. Si fuera posible, tratar de evitar el pastoreo entre los meses de octubre y febrero, período en el que se pueden realizar cortes de limpieza o henificar,

y reiniciar el pastoreo a partir de marzo con vacas preñadas sin cría o con vacas vacías (Odriozola, 1993, 2002). Esta última sugerencia, orientada a evitar la intoxicación de los animales, debería incluir un corte de la pastura en noviembre para evitar la producción de semillas infectadas.

c. Cultivo de festuca alta con endófito tóxico, en mezcla con otras gramíneas libres de endófito o leguminosas. El fundamento de esta estrategia es disminuir la proporción de festuca alta infectada en la dieta y así disminuir los potenciales efectos de toxicidad (De Battista *et al.*, 1997; Tekeli y Ateş, 2005). El éxito de esta estrategia requiere especial atención para evitar la competencia entre las especies o grupos de especies (gramíneas/leguminosas) tanto durante la etapa de implantación, como posteriormente a través de un adecuado manejo del pastoreo o cortes mecánicos (Petigrosso *et al.*, 2018b). En el caso del pastoreo, el mantenimiento de las proporciones de las especies en la pastura resulta aún más complejo debido a la preferencia diferencial de los animales por una u otra especie. Complementariamente, el manejo del pastoreo debería planificarse a escala de establecimiento con lotes de festuca y lotes

con otras ofertas forrajeras que pudieran alternarse en la rotación regulando el tiempo de consumo del ganado en el festucal.

d. Uso de cultivares de festuca libre de endófito. Como se explicó anteriormente (ver sección: Problemática del consumo de festuca infectada), en Argentina rige una reglamentación del INASE que pretende mantener baja la incidencia de endófitos tóxicos en los cultivares comercializados estableciendo un umbral bajo de aceptación (menor o igual al 5%). Una buena alternativa para eliminar los hongos endófitos *Epichloë* de la semilla infectada consiste en almacenarla por un período prolongado antes de la siembra (aproximadamente 2 años). La temperatura y la humedad del ambiente de almacenamiento son los principales reguladores de la viabilidad de las semillas y del hongo (Welty *et al.*, 1987; Bacon, 1993; Gundel *et al.*, 2009b). Existe abundante información que muestra una pérdida de viabilidad del endófito muy alta cuando la semilla es almacenada durante un período de 14-16 meses previo a la siembra (Ball y Hoveland, 1983; Williams *et al.*, 1984a, b; Maddaloni, 1986; Rolston *et al.*, 1986; Manzini, 1991). Esto puede ser modulado por variaciones

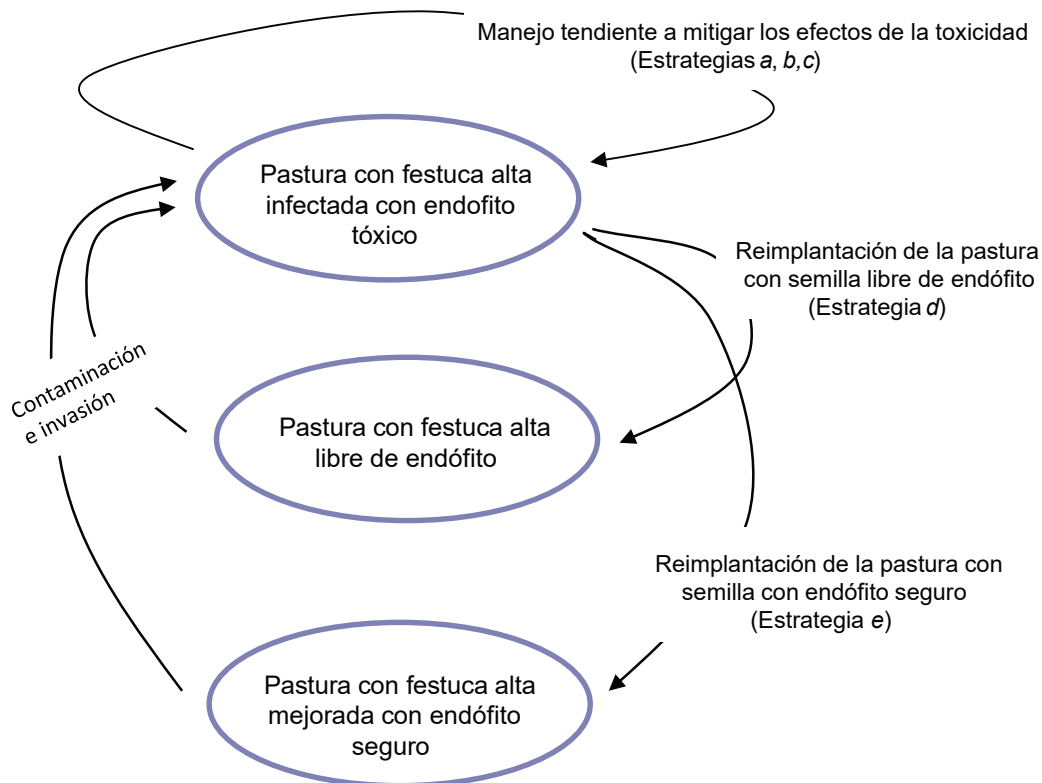


Figura 2. Estrategias de manejo tendientes a mitigar los efectos de toxicidad de pasturas de festuca alta infectadas con endófito: a) realizar defoliaciones a través de pastoreo o cortes mecánicos para evitar el pasaje de las plantas de festuca alta al estado reproductivo y la producción de semillas infectadas, b) evitar el consumo en pasturas con festuca alta infectada en los meses de verano, c) realizar intersembras de festuca alta tóxica con gramíneas libres de endófito o leguminosas, d) reimplantar la pastura empleando semilla libre de endófito, y e) reimplantar la pastura empleando semilla infectada con endófito seguro. Distintos mecanismos de contaminación e invasión convierten pasturas libres de infección o mejoradas con endófito seguro en pasturas tóxicas.

controladas de la temperatura. Por ejemplo, distintas combinaciones han sido propuestas por Siegel *et al.* (1984) (someter a las semillas 57 °C durante 40 minutos o a 49 °C durante siete días), Rolston *et al.* (1993) (almacenar las semillas a 37 °C y 70% HR) y Bouton *et al.* (1993) (incubar a las semillas a 47 °C y 45% HR por 25 días. Sin embargo, dos aspectos deben remarcar. Primero, aunque por lo general la tasa de pérdida de viabilidad del endófito es muy superior a la de las semillas, es muy importante tener en cuenta que también estas condiciones pueden afectar el poder germinativo y la viabilidad de estas últimas (Manzini, 1991 Gundel *et al.*, 2012). Segundo, la variabilidad población-específica observada sugiere fuertemente que dichas técnicas deben ser ajustadas para cada cultivar en particular. Por ejemplo, recientemente, Petigrosso *et al.* (2018b) reportaron que tratamientos térmicos resultantes de la combinación de tres temperaturas (37 °C, 48 °C y 57 °C) y cuatro tiempos de exposición (5 min, 15 min, 30 min y 1 h) no fueron efectivos en la remoción del hongo endófito de semillas provenientes de tres poblaciones de festuca alta. Alternativamente, se ha explorado tratar las semillas con fungicidas sistémicos del grupo de los triazoles, tales como triadimenol, triadimefon y bitertanol, o derivados del ácido β -metoxiacrílico, lo que ha permitido obtener porcentajes de control de 60% a 100% (Williams *et al.*, 1984a, b; Costa y De Battista, 1986; Petigrosso *et al.*, 2017). Estos valores de eficacia pueden variar con el cultivar, el porcentaje de infección inicial, y la edad de la semilla. Adicionalmente, se pueden presentar efectos fitotóxicos en detrimento del poder germinativo de las semillas y el posterior crecimiento de la plántula. Respecto a la edad de la semilla, se ha observado que la eficacia de control (para un mismo producto y dosis) aumenta con el envejecimiento (Williams *et al.*, 1984a, b).

- e. Uso de fungicidas en plantas de festuca alta infectada. Recientemente, Petigrosso *et al.* (2019a) evaluaron el efecto de diferentes dosis de los fungicidas Almagor® (triazol + imidazol) y Amistar® (derivados del ácido β -metoxiacrílico) sobre la persistencia del hongo endófito en plantas de cuatro genotipos de festuca alta. Estos autores encontraron que, mientras el fungicida Amistar® no tuvo ningún efecto, Almagor® fue 100% efectivo en todas las dosis probadas. Por lo tanto, concluyeron que resulta promisorio el uso de Almagor® ya que al interrumpir el proceso de transmisión vertical contribuiría a aumentar la proporción de semillas libres de endófito en el banco de semillas del suelo.
- f. Uso de cultivares de festuca mejorados mediante la inoculación con endófitos no tóxicos (NTE, del inglés non-toxic endophytes), también conocidos como endófitos seguros (safe-endophytes). Ante el bajo desempeño de los cultivares sin endófitos en ciertos ambientes (ej., sequías periódicas, Bouton *et al.*, 2001), una estrategia relativamente nueva consiste en inocular plantas de los cultivares elite con endófitos que no produzcan los alcaloides tóxicos para el ganado (ej., ergovalina), pero que

aún sean beneficiosos para las plantas, por ejemplo, produciendo alcaloides que confieran resistencia a plagas (ej., peramina y lolinas) (Bouton *et al.*, 2002; Gundel *et al.*, 2013; Johnson *et al.*, 2013). Estos cultivares mejorados con endófitos no tóxicos, son actualmente comercializados en países como Australia, Nueva Zelanda, y Estados Unidos (Lugtenberg *et al.*, 2016). En Argentina, algunos cultivares con endófitos seguros están en etapa de evaluación a fin de cumplir con protocolos oficiales para autorizar su comercialización.

CONCLUSIONES Y PROPUESTA DE ACCIONES FUTURAS

Los antecedentes disponibles alertan sobre la elevada incidencia de la infección de festuca alta por *Epichloë coenophiala* en la región Pampeana donde esta forrajera constituye uno de los principales recursos forrajeros. Los estudios disponibles, la mayoría de muy corto plazo y bajo condiciones poco representativas de la condición natural de las pasturas bajo pastoreo, ponen en evidencia la multi-causalidad de la dinámica de la infección, destacándose la resiembra natural de semillas portadoras del hongo como uno de los factores a los que se debe prestar especial atención en manejos tendientes a la prevención o contención de esa dinámica. Futuras investigaciones deberían analizar el avance de la infección endofítica en pasturas de festuca alta mediante experimentos a largo plazo. Además de focalizar en la dinámica de la dispersión de semillas y del banco de semillas del suelo, estos experimentos tendrían que poner énfasis en las respuestas de las plantas libres e infectadas a factores nutricionales del suelo y a las relaciones de competencia intraespecífica a nivel poblacional, el impacto del consumo preferencial de semillas y plántulas por invertebrados y de plantas establecidas libres de endófito e infectadas que se propagan a través de los excrementos del ganado y el posible sinergismo/antagonismo con otros simbiontes (ej. hongos micorrízicos). En el contexto de estos vacíos de información, y desde una perspectiva preventiva, junto con la recomendación de emplear semilla libre de endófito, se debería evitar sembrar pasturas libres en lotes con historia previa de festuca infectada o adoptar un riguroso protocolo en la implantación de estas. Por último, considerando las nuevas tecnologías, que incluyen la siembra de cultivares infectados con endófitos seguros, resultaría importante determinar si existen diferencias en la aptitud ecológica entre estos materiales y las poblaciones de festuca alta infectadas con endófito silvestre.

BIBLIOGRAFÍA

- AFKHAMI, M.E.; RUDGERS, J.A. 2008. Symbiosis lost: imperfect vertical transmission of fungal endophytes in grasses. *Am. Nat.* 172: 405-416.
- AGNUSDEI, M.G.; DI MARCO, O. 2014. Más producción de carne, menos riesgo y más flexibilidad con pasturas perennes en suelos bajos. Guía práctica para su implementación. (Disponible: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_cartilla_colombo_y_magliano_ult.pdf verificado: 10 de abril de 2019).

- ARACHEVALETA, M.; BACON, C.W.; HOVELAND, C.S.; RADCLIFFE, D.E. 1989. Effect of the tall fescue endophyte on plant response to environmental stress. *Agron. J.* 81: 83-90.
- ARNOLD, A.E.; MEJÍA, L.C.; KYLLO, D.; ROJAS, E.I.; MAYNARD, Z.; ROBBINS, N.; HERRE, E.A. 2003. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 100: 15649-15654.
- BACON, C.W. 1993. Abiotic stress tolerances (moisture, nutrients) and photosynthesis in endophyte infected tall fescue. *Agr. Ecosys. Environ.* 44: 123-141.
- BACON, C.W.; PORTER, J.K.; ROBBINS, J.D.; LUTTRELL, E.S. 1977. *Epichloe typhina* from toxic tall fescue grasses. *App. Environ. Microbiol.* 34:576-581.
- BAGEGNI, A.M., KERR, H.D., SIEPER, D.A. 1994. Herbicides with crop competition replace endophytic tall fescue (*Festuca arundinacea*). *Weed Technol.* 8: 689-695.
- BALL, D. M.; HOVELAND, C.S. 1983. Toxic fescue solution: Fungus implicated; control likely soon. *Madison, Wisconsin. American Society of Agronomy. Reimpreso de Crops Soils Mag.* 12-14 pp.
- BALL, D.M.; PEDERSEN, J.F.; LACEFIELD, G.D. 1993. The tall fescue endophyte. *Am. Sci.* 81: 370-379.
- BALL, O.J.; PRESTIDGE, R.A.; SPROSEN, J.M. 1995. Interrelationships between *Acremonium lolii*, peramine, and lolitrem B in perennial ryegrass. *App. Environ. Microbiol.* 61: 1527-1533.
- BARKER, D.J.; SULC, R.M.; BULTEMEIER, T.L.; MCCORMICK, J.S.; LITTLE, R.; PENROSE, C.D.; SAMPLES, D. 2005. Contrasting toxic-endophyte contamination between endophyte-free and nontoxic-endophyte tall fescue pastures. *Crop Sci.* 45: 616-625.
- BAZZIGALUPI, O.; FONT, A.; LLERA, A.; BERTÍN, O.; AQUILANO, C. 2009. Diagnóstico 2008 de calidad de semilla de festuca alta (*Festuca arundinacea*) en la región norte de la provincia de Buenos Aires. *Rev. Análisis de Semillas* 3: 93-95.
- BELESKY, D.P.; STRINGER, W.C.; HILL, S. 1989. Influence of endophyte and water regimen upon tall fescue accessions. I. Growth characteristics. *Ann. Bot.* 63: 495-503.
- BENCE, A.R.; CANTÓN, G.J.; LACAU-MENGIDO, I.M.; BREIJO, M.; BRITO, M.G.; FANTINI, J.; MAZZANTI, M.; CORA, J.; RODRÍGUEZ, A.M.; LÓPEZ VALIENTE, S.; MARESCA, S. 2016a. Consumo de festuca tóxica en vacas de cría en la segunda mitad de la gestación: efectos parto. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 36 (Supl. 1): 204.
- BENCE, A.R.; CANTÓN, G.J.; ARMENDANO, J.I.; MOGABURU, F.; MIGLIAVACCA, J.I.; RODRÍGUEZ, A.M.; LÓPEZ VALIENTE, S.; MARESCA, S. 2016b. Consumo de festuca tóxica en vacas de cría en la segunda mitad de la gestación: morfometría placentaria-fetal. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 36 (Supl. 1): 205.
- BORRAJO, C.I. 2015. Implantación de cultivares de festuca en la Cuenca del Salado. (Disponible: <http://inta.gov.ar/documentos/implantacion-de-cultivares-de-festuca-en-la-cuenca-del-salado-verificado>: 25 de julio de 2015).
- BORRAJO, C.I.; LARREA, G.; CRISTOS, D.; SALVAT, A. 2018. Efectos de la defoliación en la concentración de ergocalcoides de festuca infectada con el hongo causante de festucosis. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 38 (Supl. 1): 201.
- BOUTON, J.H.; GATES, R.N.; BELESKY, D.P.; OWSLEY, M. 1993. Yield and persistence of tall fescue in the southeastern coastal plain after removal of its endophyte. *Agr. J.* 85: 52-55.
- BOUTON, J.H.; GATES, R.N.; HOVELAND, C.S. 2001. Selection for persistence in endophyte-free Kentucky 31 tall fescue. *Crop Sci.* 41: 1026-1028.
- BOUTON, J.R.; GATES, R.; HILL, N.; HOVELAND, C. 2002. Agronomic traits with MaxQ tall fescue. *Proc. Tall Fescue Toxicosis Workshop, SERAIEG-8, Wildersville, TN.* 27-29 Oct. 2002. Missouri Forage and Grassland Council. 40-41 pp.
- BURGGRAAF, V.T.; THOM, E.R. 2000. Contamination and persistence of endophyte-free ryegrass pastures established by spray-drilling, and intensively grazed by dairy cows in the Waikato region of New Zealand. *NZ J. Agric. Res.* 43: 163-173.
- BURNS, J.C.; CHAMBLEE D.S. 1979. Adaptation. En: BUCKNER, R.C.; BUSH, L.P. (eds.) *Tall fescue*. ASA, Madison, WI. 9-39 pp.
- CAMPERO, C.M. 1996. Efectos de la festuca tóxica sobre el desempeño reproductivo y producción en bovinos. Una revisión. *Therios.* 25: 306-316.
- CANTÓN, G.J.; BENCE, A.R.; OLMOS, L.; LLADA, I.; MAZZANTI, M.; MIGLIAVACCA, J.I.; ARMENDANO, J.I.; ODRIOZOLA, E.R. 2016. Porcentaje de infestación con endófito en festucas (*Lolium arundinaceum*) analizadas en INTA EEA Balcarce. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 36 (Supl. 1): 34.
- CASAL, A.; LARREA, G.; CORIA, D.; RÍPODAS I. 2015. Control de festucas tóxicas con la aplicación de herbicida total y promoción de especies forrajeras estivales en la Cuenca del Salado. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 35 (Supl. 1): 181.
- CHEPLICK, G.P.; CLAY, K. 1988. Acquired chemical defenses of grasses: the role of fungal endophytes. *Oikos* 3: 309-318.
- CHEPLICK, G.P.; FAETH, S.H. 2009. *Ecology and evolution of the grass endophyte symbiosis*. Oxford University Press, Nueva York. 256 p.
- CHRISTENSEN, M.J.; Bennett, R.J.; Ansari, H.A.; Koga, H.; Johnson, R.D.; Bryan, G.T.; Simpson, W.R.; Koolaar, J.P.; Nickless, M.E.; Voisey, C.R. 2008. *Epichloë* endophytes grow by intercalary hyphal extension in elongating grass leaves. *Fungal Genet Biol.* 45: 84-93.
- CHUNG, K.R.; SCHARDL, C.L. 1997. Vegetative compatibility between and within *Epichloe* species. *Mycologia* 89: 558-565.
- CLAY, K. 1988. Fungal endophytes of grasses: a defensive mutualism between plants and fungi. *Ecology* 69: 10-16.
- CLAY, K. 1990. Comparative demography of three graminoids infected by systemic, clavicipitaceous fungi. *Ecology* 71: 558-570.
- CLAY, K.; SCHARDL, C. 2002. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *Am. Nat.* 160: 99-127.
- CLAY, K.; HOLAH, J.; RUDGERS J.R. 2005. Herbivores cause a rapid increase in hereditary symbiosis and alter plant community composition. *PNAS* 102 (35): 12465-12470.
- COLABELLI, M.N.; SALOMONE, L.; FERNÁNDEZ, F.; SAN MARTINO, S. 2006. Niveles de infección de *Neotyphodium coenophialum* en poblaciones de festuca naturalizadas en el sudeste bonaerense. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 26 (Supl. 1): 239-240.
- COSGROVE, G.P.; ANDERSON, C.B.; PHILLOT, M.; NYFFLER, D.; HUME, D.E.; PARSON, A.J.; LANE, G.A. 2002. The effect of endophyte alkaloids on diet selection by sheep. *Proc. NZ Soc. Anim. Prod.* 62: 167-170.
- COSTA, M.C.; DE BATTISTA, J.P. 1986. Tratamiento de semillas para el control del hongo endófito en festuca. *Boletín Técnico. Serie Producción Vegetal N.º30.* EEA Concepción del Uruguay. INTA. 7p.
- CUYEU, R.; ROSSO, B.; PAGANO, E.; SOTO, G.; FOX, R.; AYUB, N.D. 2013. Genetic diversity in a world germplasm collection of tall fescue. *Genet. Mol. Biol.* 3: 237-242.
- DE BATTISTA, J.P. 1989. El endófito de la festuca. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 9: 447-456.
- DE BATTISTA, J.; PERETTI, A.; CARLETTI, S.; RAMIREZ, A.; COSTA, M.; SCHULTZ, L. 1995. Evolución de la incidencia de la infección de *Acremonium coenophialum* en la oferta de semilla de festuca alta en Argentina. Período 1987-1994. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 15: 300-302.

- DE BATTISTA, J.; ALTIER, N.; GALDAMES, D.R.; DALL'AGNOL, M. 1997. Significance of endophyte toxicosis and current practices in dealing with the problema in South America. En: BACON, C.W.; HILL, N.S. (eds.) *Neotyphodium/Grass Interactions*. Plenum Press: Nueva York. 383-388 pp.
- DEFELICE, M.S.; HENNING, J.C. 1990. Renovation of endophyte (*Acremonium coenophialum*) infected tall fescue (*Festuca arundinacea*) pastures with herbicides. *Weed Sci.* 38: 628-633.
- DELGADO, I.; TANCO, J.A. 1980. La festuca alta (*Festuca arundinacea* Schreb.) de origen mediterráneo. *ITEA* 38: 49-54.
- DI MENNA, M.E.; WALLER, J.E. 1986. Visual assessment of seasonal changes in amount of mycelium of *Acremonium loliae* in leaf sheaths of perennial ryegrass. *NZ J. Agric. Res.* 29: 111-116.
- EDWARDS, G.R.; LUCAS, R.J.; JOHNSON, M.R. 1993. Grazing preference for pasture species by sheep is affected by endophyte and nitrogen fertility. *Proc. NZ Grass. Assoc.* 55: 137-141.
- ELIZALDE, J.; RIFFEL, S. 2015. Alertan sobre festucosis en la Cuenca del Salado. (Disponible: <http://www.valorcarne.com.ar/alertan-sobre-festucosis-en-la-cuenca-del-salado/> verificado: 10 de abril de 2019).
- ELMI, A.A.; WEST C.P. 1995. Endophyte infection effects on stomatal conductance, osmotic adjustment and drought recovery of tall fescue. *New Phytol.* 131: 61-67.
- EVANS, T.J.; ROTTINGHAUS, G.E.; CASTEEL, S.W. 2004. Ergot. En: PLUMLEE, K.H. (ed.). *Clinical Veterinary Toxicology* Mosby, St. Louis, MO. 239-243 pp.
- EVANS, T.J.; BLODGETT, D.J.; ROTTINGHAUS, G.E. 2012. Fescue toxicosis. *Vet Toxicol.* 87: 1166-1177.
- FERNÁNDEZ, O.N.; COLABELLI, M.N.; PETIGROSSO, L.; CAUHÉPÉ, M. 2007. Persistencia del endosimbionte *Neotyphodium coenophialum* en el banco de semillas de festuca. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 27 (Supl. 1): 142-143.
- FOOTE, A.P.; HARMON, D.L.; STRICKLAND, J.R.; BUSH, L.P.; KLOTZ, J.L. 2011. Effect of ergot alkaloids on contractility of bovine right ruminal artery and vein. *J. Anim. Sci.* 89: 2944-2949.
- FRIBOURG, H.A.; HANNAWAY, D.B. 2007. Tall fescue for the twenty-first century. *Agron. Monog.* 53. ASA, CSSA, SSSA. Madison, WI. (Disponible: <http://forages.oregonstate.edu/tallfescuemonograph> verificado: 10 de abril de 2019) 540 p.
- GARCIA, J.A.; CANTON, J.C.; GARCIA, B.L.; MICHELOUD, J.F.; CAMPERO, C.M.; SPATH, E.J.A.; ODRIZOLA, E.R. 2017. Retrospective analysis of cattle poisoning in Argentina (2000-2013). *Rev. Pesq. Vet. Bras.* 37:210-214.
- GIBSON, D.J.; NEWMAN, J.A. 2001. Biological floral of the British Isles: *Festuca arundinacea* Schreb. (*F. elatior* subsp. *arundinacea* (Schreb.) Hackel). *J. Ecol.* 89: 304-324.
- GLENN, A.E.; BACON, C.W.; PRICE, R.; HANDIL, R.T. 1996. Molecular phylogeny of *Acremonium* and its taxonomic implications. *Mycologia.* 88: 369-383.
- GUNDEL, P.E.; BATISTA, W.H.; TEXEIRA M.; MARTINEZ-GHERSA, M.A.; OMACINI M.; GHERSA, C.M. 2008. *Neotyphodium* endophyte infection frequency in annual grass populations: relative importance of mutualism and transmission efficiency. *Proc. Royal Soc. Londres* 275: 897-905.
- GUNDEL, P.E.; GARIBALDI, L.A.; TOGNETTI, P.M.; ARAÓN, R.; GHERSA, C.M.; OMACINI, M. 2009a. Imperfect vertical transmission of the endophyte *Neotyphodium* in exotic grasses in grasslands of the Flooding Pampa. *Microbial. Ecol.* 57: 740-748.
- GUNDEL, P.E.; MARTÍNEZ-GHERSA, M.A.; GARIBALDI, L.A.; GHERSA, C.M. 2009b. Viability of *Neotyphodium* endophytic fungus and endophyte-infected and noninfected *Lolium multiflorum* seeds. *Botany* 87: 88-96.
- GUNDEL, P.E.; MARTINEZ-GHERSA, M.A.; BATISTA, W.B.; GHERSA, C.M. 2010. Dynamics of *Neotyphodium* endophyte infection in ageing seed pools: incidence of differential viability loss of endophyte, infected seed, and non-infected seed. *Ann. Appl. Biol.* 156: 199-209.
- GUNDEL, P.E.; RUDGERS, J.A.; GHERSA, C.M. 2011. Incorporating the process of vertical transmission into understanding of host symbiont dynamics. *Oikos* 120: 1121-1128.
- GUNDEL, P.E.; MARTÍNEZ-GHERSA, M.A.; GHERSA, C.M. 2012. Threshold modelling *Lolium multiflorum* seed germination: effect of *Neotyphodium* endophyte infection and storage environment. *Seed Sci. Technol.* 40: 51-62.
- GUNDEL, P.E.; PÉREZ, L.I.; HELANDER, M.; SAIKKONEN, K. 2013. Symbiotically modified organisms: nontoxic fungal endophytes in grasses. *Trends Plant Sci.* 18: 420-427.
- HAND, M.L.; COGAN, N.O.; STEWART, A.V.; FORSTER, J.W. 2010. Evolutionary history of tall fescue morphotypes inferred from molecular phylogenetics of the *Lolium-Festuca* species complex. *Evol. Biol.* 10:1-17.
- HANNAWAY, D.; FRANSEN, S.; CROPPER, J.; TEEL, M.; CHANEY, M.; GRIGGS, T.; HALSE, R.; HART, J.; CHEEKE, P.; HANSEN, D.; KLINGER, R.; LANE, W. 1999. Tall fescue Oregon State University. Oregon. *EUA. PNW* 504: 1-20.
- HILL, N.S.; STRINGER, W.C.; ROTTINGHAUS, G.E.; BELESKY, D.P.; PARTOT, W.A.; POPE, D.D. 1990. Growth, morphological and chemical component responses of tall fescue to *Acremonium coenophialum*. *Crop Sci.* 30: 156-161.
- HILL, N.S.; BELESKY, D.P.; STRINGER, W.C. 1998. Encroachment of endophyte-infected on endophyte-free tall fescue. *Ann. Bot.* 81: 483-488.
- HILL, N.S.; ANDRAE, J.G.; DURHAM, R. G; HANCOCK, D. W. 2010. Herbicide Treatments to Renovate Toxic Endophyte Infected Tall Fescue Pastures with 'Jesup' MaxQ. *Crop Sci.* 50: 1086-1089.
- HOPKINS, A.A.; SAHA, M.C.; WANG, Z.Y. 2009. Breeding, Genetics and Cultivars. En: FRIBOURG, H.A.; HANNAWAY, D.B.; WEST, C.P. (ed.). *Tall Fescue for the Twenty-first Century*. *Agronomy Monographs* 53. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI. 339-366 pp.
- HOVELAND, C.S. 1993. Economic importance of *Acremonium* endophytes. *Agr. Ecosyst. Environ.* 44: 3-12.
- HOVELAND, C.S.; ALLISON, M.W.; DURHAM, R.G.; WORLEY, P.C.; WORLEY, E.E.; DOBSON, J.W.JR.; NEWSOME, J.F.; CALVERT, G.V. 1986. Suppression of tall fescue sod with herbicides for planting of endophyte free seed. *Georgia Agric. Res. Rep.* 516. 9 p.
- INSTITUTO NACIONAL DE SEMILLAS (INASE). 1995. Resolución 067/95. Ministerio de Economía, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. 4 p.
- INSTITUTO NACIONAL DE SEMILLAS (INASE). 2007. Resolución 217/07. Ministerio de Economía y Producción. Comercialización de Semillas Forrajeras. 3 p.
- JACOBSON, D.R.; CARR, S.B.; HATTON, R.H.; BUCKNER, R.C.; GRADEN, A.P.; DOWDEN, D.R.; MILLER, W.M. 1969. Growth physiological responses and evidence of toxicity in yearling dairy cattle grazing different grasses. *J. Dairy. Sci.* 53: 575-587.
- JAUHAR, P.P. 2012. Cytogenetics of the *Festuca-Lolium* complex: relevance to breeding (Vol. 18). Springer Science & Business Media.
- JERNSTEDT, J.A.; BOUTON, J.H. 1985. Anatomy, morphology, and growth of tall fescue rhizomes. *Crop Sci.* 25: 539-542.
- JESSEP, T.M.; DENT, C.H.; KEMP, J.B.; CHRISTIE, B.; AHRENS, P.J.; BURGESS, L.W.; BRYDEN, W.L. 1987. Bovine idiopathic hyperthermia. *Aust. Vet. J.* 64: 353-354.

- JOHNSON, L.; DE BONTH, A.; BRIGGS, L.; CARADUS, J.; FINCH, S.; FLEETWOOD, D.; FLETCHER, L.; HUME, D.; JOHNSON, R.; POPAY, A.; TAPPER, B.; SIMPSON, W.; VOISEY, C.; CARD, S. 2013. The exploitation of epichloae endophytes for agricultural benefit. *Fungal Divers.* 60: 171-188.
- LATCH, G.C.M.; HUNT, W.F.; MUSGRAVE, D.R. 1985. Endophytic fungi affect growth of perennial ryegrass. *NZ J. Agr. Res.* 28: 165-168.
- LATTANZI, F.A.; MAZZANTI, A.; WADE, M.H. 2007. Seasonal animal production of temperature and Mediterranean tall fescue cultivars under continuous variable stocking with close control of sward state. *Aust. J. Agric. Res.* 58: 203-213.
- LEUCHTMANN, A.; OBERHOFER, M. 2013. The Epichloae endophytes associated with the woodland grass *Hordeelymus europaeus* including or new taxa. *Micologia* 105: 1315-1324.
- LEUCHTMANN, A.; BACON, C.W.; SCHARDL, C.L.; WHITE, J.F.; TADYCH, M. 2014. Nomenclatural realignment of *Neotyphodium* species with genus *Epichloë*. *Mycol.* 106: 202-215.
- LIU, J.; NAGABHYRU P.; SCHARDL, C.L. 2017. *Epichloë festucae* endophytic growth in florets, seeds, and seedlings of perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Mycologia* 109: 691-700.
- LUGTENBERG, B.J.J.; CARADUS, J.R.; JOHNSON, L.J. 2016. Fungal endophytes for sustainable crop production. *Microbiol. Ecol.* 92 (12):1-17.
- LYONS, P.C.; EVANS, J.J.; BACON, C.W. 1990. Effects of the fungal endophyte *Acremonium coenophialum* on nitrogen accumulation and metabolism in tall fescue. *Plant Physiol.* 92: 726-732.
- MADDALONI, J. 1986. *Festuca arundinacea* Schreb. Relación entre calidad de semilla y toxicidad de la planta. Buenos Aires, Argentina. AIANBA: INTA, EEA Pergamino. Jornadas de actualización profesional sobre: "Producción de forrajeras". 10 p.
- MADISON, L.A.; BARNES, T.G.; SOLE, J.D. 1994. Effectiveness of Fire, Disking, and Herbicide to Renovate Tall Fescue Fields to Northern Bobwhite Habitat. *Wildlife Society Bulletin* 29: 706-712.
- MALINOWSKI, D.; BELESKY, D. 2000. Adaptations of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. *Crop Sci.* 40: 923-940.
- MANZINI, N.A. 1991. Estudios sobre *Acremonium* sp. en festuca. Serie Técnica N.º 8. Unidad de Difusión e Información Tecnológica. INIA. Montevideo, Uruguay. 16 p.
- MAZZANTI, A.; CASTAÑO J.; SEVILLA, C.; ORBEA, J. 1992. Características agronómicas de especies y cultivares de gramíneas y leguminosas forrajeras adaptadas al sudeste de la Provincia de Buenos Aires. Centro Regional Buenos Aires Sur. EEA Balcarce. INTA. 73 p.
- MILNE, G.D. 2009. Management in New Zealand, Australia and South America. En: FRIBOURG, H.A.; HANNAWAY, D.B.; WEST, C.P. (eds.). Tall fescue for the Twenty-first Century. Agron. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. Monogr. 53. 101-118 pp.
- MÜLLER, C.B.; KRAUSS, J. 2005. Symbiosis between grasses and asexual fungal endophytes. *Curr. Opin. Plant Biol.* 8: 450-456.
- ODRIOZOLA, E.; LOPEZ, T.C.; CAMPERO, C.; GIMÉNEZ PLACERES, C. 1993. Ryegrass staggers in heifers: a new mycotoxicosis in Argentina. *Vet. Hum. Toxicol.* 35: 144-146.
- ODRIOZOLA, E.; IRAGUEN PAGATE I.; LLOBERAS, M. M.; COSENTINO, I.; PORTEY R.; OROMÍ, J. 2002. Festuca tóxica. Su efecto en diferentes razas bovinas. *Rev. Vet. Arg.* 19: 12-21.
- OLIVEIRA J.A.; CASTRO P.; COLLAR J. 1996. El hongo endófito de raigrás inglés. *Agricultura* 767: 483-485.
- OMACINI, M.; CHANETON, E.J.; GHERSA, C.M. 2005. A Hierarchical framework for Understanding the Ecosystem consequences of Endophyte-Grass Symbioses. En: ROBERTS, C. (ed.), *Neotyphodium* in Cool-Season Grasses. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, EUA. 141-162 pp.
- OMACINI, M.; GUNDEL, P.; SEMMARTIN M. G. 2013. Huellas de la simbiosis pasto-endófito en el agroecosistema. En: GARCÍA DE SALAMONE, I.E.; VÁZQUEZ, S.; PENNA, C.; CASSAN, F. (eds.). Rizósfera, Biodiversidad y Agricultura Sustentable. División de Microbiología Agrícola y Ambiental, Asociación Argentina de Microbiología. Buenos Aires, Argentina. 73 p.
- PENROSE, C.D.; SULC, R.M.; VOLLBORN, E.M. 2000. A three year report of animal preference, stockpile, yield and quality of fescue and orchardgrass. Proceedings American Forage and Grassland Council, Madison, WI. American Forage and Grassland Council, Georgetown, TX. 213-217 pp.
- PERETTI, A.; ESCUDER, C.J. 1990. Evaluación de la calidad de semillas forrajeras en el sudeste bonaerense. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 10: 331-334.
- PETIGROSSO, L.R.; COLABELLI, M.N.; FERNÁNDEZ, O.N.; ISPIZÚA, V.; CENDOYA, M.G. 2013. Incidence of the endophyte fungus *Neotyphodium coenophialum* in pastures of tall fescue differing in age and soil characteristics. *Afr. J. Agric. Res.* 8: 2655-2662.
- PETIGROSSO, L.R.; NOSQUESE, V.; ECHEVERRÍA, M.; COLABELLI, M.N.; VIGNOLIO, O.R. 2017. Efectividad del fungicida Amistar® en la remoción de endófito asexual *Epichloë coenophiala* en semillas de festuca alta. Comunicación. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 37 (Supl. 1): 100 p.
- PETIGROSSO, L.R.; ASSUERO, S.G.; VIGNOLIO, O.R.; ROMANO, Y.; COLABELLI, M.N.; SALVAT, A.; CRISTOS, D. 2018a. Interacción entre festuca alta infectada con endófito y *Lotus tenuis* bajo dos frecuencias de defoliación. *RIA.* 44(1):41-48.
- PETIGROSSO, L.R.; GARCÍA, G.; COLABELLI, M.N.; ECHEVERRÍA, M.; VIGNOLIO, O.R.; SAN MARTINO, S.; ASSUERO, S.G. 2018b. Remoción del hongo endófito asintomático *Epichloë coenophiala* de semillas de festuca alta mediante tratamientos térmicos. Comunicación. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 38 (Supl. 1): 187 p.
- PETIGROSSO, L.R.; VIGNOLIO, O.R.; DAMIANO, I.; ECHEVERRÍA, M.; COLABELLI, M.N.; GUNDEL, P.E. 2019a. Eradication of the fungus *Epichloë coenophiala* from *Schedonorus arundinaceus* (tall fescue) seeds by interrupting the vertical transmission process. *Ecología Austral* 29: 055-062.
- PETIGROSSO, L.R.; NAVARRO, D.; ASSUERO, S.G.; VIGNOLIO, O.R.; CASTAÑO, J.A.; COLABELLI, M.N. 2019b. Respuesta a la frecuencia de defoliación de plantas de festuca alta de una población naturalizada infectada con endófito silvestre y un cultivar comercial libre. *RIA.* En prensa.
- RAYNAL, G. 1991. Observations françaises sur les *Acremonium*, champignons endophytes des graminées fourragères. *Fourrages.* 126: 225-237.
- REED, K.F.M.; CLEMENT, S.L.; FEELY, W.F.; CLARK, B. 2004. Improving tall fescue (*Festuca arundinacea*) for cool-season vigo. *Australian J. Exp. Agr.* 44: 873-881.
- REN, A.; GAO Y.; ZHOU, F. 2007. Response of *Neotyphodium lolii*-infected perennial ryegrass to phosphorus deficiency. *Plant Soil Environ.* 53 (3): 113-119.
- RICHARDSON, M.D.; HOVELAND, C.S.; BACON, C.W. 1993. Photosynthesis and stomatal conductance of symbiotic and nonsymbiotic tall fescue. *Crop Sci.* 33: 145-149.
- ROBERTS, C.A.; WEST, C.P.; SPIERS, D.E. 2005. *Neotyphodium* in cool-season Grasses. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, EUA. 379 p.
- ROLSTON, M.P.; HARE, M.D.; MOORE, K.K.; CHRISTENSEN, M.J. 1986. Viability of *Lolium* endophyte fungus in seed stored at different seed moisture contents and temperature. *NZ J. Exp. Agr.* 14: 297-300.

- ROLSTON, M.P.; CRUSH J.R.; HARÉ, M.D.; MOORE, K.K. 1993. *Lolium* endophyte viability: effect of seed storage. Proc. XVII Int. Grass Cong. 1876-1877 pp.
- SAIKKONEN, K.; LEHTONEN, P.; HELANDER, M.; KORICHEVA, J.; FAETH, S.H. 2006. Model systems in ecology: Dissecting the endophyte-grass literature. Trends Plant Sci. 11: 428-433.
- SAIKKONEN, K.; GUNDEL, P.E.; HELANDER, M. 2013. Chemical ecology mediated by fungal endophytes in grasses. J. Chem. Ecol. 39: 962-968.
- SALA, O.E.; OESTERHELD, M.; LEÓN R.J.C.; SORIANO, A. 1986. Grazing effects upon plant community structure in subhumid grasslands of Argentina. Vegetatio 67: 27-32.
- SCHARDL, C.L.; PHILLIPS T.D. 1997. Protective grass endophytes. Where are they from and where are they going? Plant Dis. 81: 430-438.
- SCHARDL, C.L.; LEUCHTMANN, A.; SPIERING, M.J. 2004. Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes. Ann. Rev. Plant Biol. 55: 315-340.
- SHARDL, C.L. 2010. The epichloae symbiontes of the grass subfamily Pooideae. Ann. Missouri Bot. Gard. 97: 646-665.
- SCHENEITER, J.O.; KAUFMANN, I.I.; FERREYRA, A.R.; LLORENTE, R.T. 2016. The herbage productivity of tall fescue in the Pampas region of Argentina is correlated to its ecological niche. Grass Forage Sci. 71: 403-412.
- SCHARDL, C.L.; YOUNG, C.A.; PAN, J.; FLOREA, S.; TAKACH, J.E.; PANACCIONE, D.G.; FARMAN, M.L.; WEBB, J.S.; JAROMCZYK, J.; CHARLTON, N.D.; NAGABHYRU, P.; CHEN, L.; SHI, C.; LEUCHTMANN, A. 2013. Currencies of mutualisms: sources of alkaloid genes in vertically transmitted *Epichloe*. Toxins 5: 1064-1088.
- SCHMIDT, S.P.; OSBORN, T.G. 1993. Effects of endophyte-infected tall fescue on animal performance. Agric. Ecosyst. Environ. 44(1-4): 233-262.
- SCHNEIDER, D.J.; MILES, C.O.; GARTHWAITE, I.; VAN HALDEREN, A.; WESSELS, J.C.; LATEGAN, H.J. 1996. First report of field outbreak of ergot-alkaloid toxicity. South Africa Vet. Res. 63: 97-108.
- SELOSSE, M.A.; SCHARDL, C.L. 2007 Fungal endophytes of grasses: hybrids rescued by vertical transmission? An evolutionary perspective. New Phytol. 173: 452-458.
- SEMMARTIN, M.; OMACINI, M.; GUNDEL, P.E.; HERNANDEZ-AGRAMONTE, I.M. 2015. Broad-scale variation of fungal-endophyte incidence in temperate grasses. J. Ecol. 103: 184-190.
- SHELBY, R.A.; DALRYMPLE, L.W. 1987. Incidence and distribution of the tall fescue endophyte in the United States. Plant Dis. 71: 783-786.
- SHELBY, R.A.; SCHMIDT, S.P.; RUSSELL, R.W.; GREGORY, W.H. 1989. Spread of tall fescue endophyte by cattle. Leaflet 104, Alabama Agric. Exp. Stn.
- SHELBY, R.A.; SCHMIDT, S.P. 1991. Survival of the tall fescue endophyte in the digestive tract of cattle and horses. Plant Dis. 75: 776-778.
- SHELBY, R.A.; DALRYMPLE, L.W. 1993. Long-term changes of endophyte infection in tall fescue stands. Grass Forage Sci. 48: 356-361.
- SIEGEL, M.R.; JOHNSON, M.C.; VARNEY, D.R.; NESMITH, W.C.; BUCKNER, R.C.; BUSH, L.P.; BURRUS, P.B.; JONES, T.A.; BOILING, J.A. 1984. A fungal endophyte of tall fescue: incidence and dissemination. Phytopathology 74: 932-937.
- SIEGEL, M.R.; LATCH, G.C.M.; JOHNSON, M.C. 1987. Fungal endophytes of grasses. Annu. Rev. Phytopathol. 25: 193-315.
- SPYREAS, G.; GIBSON, D.J.; MIDDLETON, B.A. 2001. Effects of endophyte infection in tall fescue (*Festuca arundinacea*: Poaceae) on community diversity. Int. J. Plant Sci. 162: 1237-1245.
- STRICKLAND, J.R.; LOOPER, M.L.; MATTHEWS, J.C.; ROSENKRANS, C.F.; FLYTHE, M.D. JR.; BROWN, K.R. 2011. St. Anthony's fire in livestock: Causes, mechanisms, and potential solutions. J. Anim. Sci. 89: 1603-1626.
- STUEDEMANN, J.A.; HOVELAND, C.S. 1988. Fescue endophyte: History and impact on animal agriculture. J. Prod. Agric 1: 39-44.
- TEKELI A.S.; ATEES, E. 2005. Yield potential and mineral composition of white clover (*Trifolium repens* L.) – tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) mixtures. J. Cent. Eur. Agr. 6: 27-34.
- THOMPSON, R.W.; FRIBOURG, H.A.; REDDICK, B.B. 1989. Sampling intensity and timing for detecting incidence of *Acremonium coenophialum* in fescue pastures. Agron. J. 81: 966-971.
- THOMPSON, R.W.; FRIBOURG, H.A.; WALLER, J.C.; SANDERS, W.L.; REYNOLDS, J.H.; PHILLIPS, J.M.; SCHMIDT, S.P.; CRAWFORD, R.J.JR.; ALLEN, V.G.; FAULKNER, D.B. 1993. Combined analysis of tall fescue steer grazing studies in the Eastern United States. J. Anim. Sci. 71: 1940-1946.
- TOR-AGBIDYE, J.; BLYTHE, L.L.; CRAIG, A.M. 2001. Correlation of endophyte toxins (ergovaline and lolitrem B) with clinical disease: fescue foot and perennial ryegrass staggers. Vet. Hum. Toxicol. 43: 140-146.
- TREVOR, D.I.; BATES, G.E.; MUELLER, C.T.; WALLER, J.C.; RHODES, G.N.JR. 2016. Effects of *Aminocyclopyrachlor Plus Metsulfuron* on tall fescue yield, forage quality, and ergot alkaloid concentration. Weed Technol. 30: 171-180.
- VIGNOLIO, O.R.; COLABELLI, M.N. 2008. Supervivencia de las semillas de *Lolium multiflorum* Lam. y del endófito *Neotyphodium occultans* Moon al pasaje por el tracto digestivo en vacunos. Rev. Arg. Prod. Anim. 28: 1-6.
- WASHBURN, B.E.; BARNES, T.G.; SOLE, J.D. 2000. Improving Northern Bobwhite Habitat by Converting Tall Fescue Fields to Native Warm-Season Grasses. Wildl. Soc. Bull. 28(1)97-104.
- WELTY, R.E.; AZEVEDO, M.D.; COOPER, T.M. 1987. Influence of moisture content, temperature, and length of storage on seed germination and survival of endophytic fungi in seeds of tall fescue and perennial ryegrass. Phytopathol. 77: 893-900.
- WELTY, R.E.; CRAIG, A.M.; AZEVEDO, M.D. 1994. Variability of ergovaline in seeds and straw and endophyte infection in seeds among endophyte-infected genotypes of tall fescue. Plant Dis. 78: 845-849.
- WEST, C.P.; GWINN, K.D. 1993. Role of *Acremonium* in drought, pest, and disease tolerances of grasses. En: HUME, D.E.; LATCH, G.C.M.; EASTON, H.S. (eds.). Proceedings of the Second International Symposium *Acremonium*/Grass Interactions. Palmerston North, Nueva Zelanda. 131-140 pp.
- WHITE, J.F. 1988. Endophyte-host associations in forage grasses. XI. A proposal concerning origin and evolution. Mycologia 80: 442-446.
- WHITE, J.F.JR.; MORGAN-JONES, G.; MORROW, A.C. 1993. Taxonomy, life cycle, reproduction and detection of *Acremonium* endophytes. Agr. Ecosys. Environ. 44: 13-37.
- WHITE, J.F.JR.; TORRES, M. 2009. Defensive mutualism in microbial symbiosis. CRC Press. Boca Raton, FL. 333-334 pp.
- WILLIAMS, M.J.; BACKMAN, P.A.; CLARCK, E.M.; WHITE, J.F. 1984a. Seed treatments for control of the tall fescue endophyte *Acremonium coenophialum*. Plant Dis. 68: 49-52.
- WILLIAMS, M.J.; BACKMAN, P.A.; CRAWFORD, M.A.; SCHMIDT, S.P.; KING, C.C.JR. 1984b. Chemical control of the fescue endophyte and its relationship to cattle performance. New Zeal. J. Exp. Agr. 12: 165-171.
- ZABALGOGEAZCOA, I.; GARCIA CIUDAD, A.; GARCIA CRIADO, B. 1998. *Neotyphodium coenophialum* en semillas de variedades forrajeras de *Festuca arundinacea*. Invest. Agr. Prod. Prot. Veg. 13: 1-2.

Colección de genotipos de batata de sanidad controlada del Instituto de Patología Vegetal

VILANOVA PEREZ, A.; SUASNABAR R.R.; DI FEO, L.¹

En Japón, que lidera el consumo de batata, este cultivo es considerado como un alimento “casi perfecto” porque provee todos los nutrientes cuando se lo combina con proteínas y lípidos.

La calidad del material de plantación es uno de los aspectos más importantes para asegurar el éxito de un cultivo de batata. Está dada por dos factores fundamentales: la variedad y la sanidad. La tendencia mundial es el empleo de cultivares precoces de alta productividad, con compuestos saludables como los carotenoides, en los cultivares de pulpa amarilla o anaranjada y las antocianinas, en los de pulpa morada. Estos, además, deben estar libres de virus, principal limitante de la producción cuantitativa y cualitativamente.

Frente a la creciente demanda de material de propagación, el Instituto de Patología Vegetal, dependiente del Centro de Investigaciones Agropecuarias del INTA Córdoba (IPAVE-CIAP-INTA) cuenta, al presente, con una colección de genotipos requeridos en las diversas provincias productoras, que fueron liberados de virus y de otros patógenos sistémicos a través del cultivo *in vitro* de meristemas, con termoterapia previa y que, además, recuperaron su pureza varietal. Estos son mantenidos por micropropagación *in vitro*, en cámaras de cría, y por macropropagación en

invernaderos y en jaulones antiáfidos, donde se produce la “semilla” certificada de segunda multiplicación, apta para ser entregada a los productores.

La colección de genotipos de batata de IPAVE, representa parte de la gran variabilidad que caracteriza a la especie, ya que en el mundo existen más de 400 variedades, con color de piel desde blanco hasta púrpura oscuro, pasando por diferentes matices de rosado. Lo mismo sucede con la pulpa que puede ser blanca hasta totalmente morada, con todos los tonos intermedios. En Argentina, las preferencias al respecto son distintas de acuerdo a la zona de cultivo. En la región Pampeana y en Cuyo, se plantan cultivares de piel morada y pulpa amarilla, tales como Morada INTA y Arapey INIA. En el NEA, predominan materiales de piel y pulpa blanca, como Okinawa 100, aunque se está dando difusión a otros con pulpa anaranjada, como Gem. En el NOA coexisten cultivares locales de pulpa blanca con materiales de piel morada y pulpa amarilla (Paraguayana y Famaillá 6, entre otros). La región Pampeana (Buenos Aires, Córdoba y Santa Fe) y el NEA tienen el 83 % de la superficie plantada, con 43 % para la primera y 40 % para la segunda. El NOA, el 15 %, y el restante 2 % corresponde a Cuyo. Actualmente, IPAVE ofrece a los agricultores y a la agroindustria, propágulos de sanidad controlada de los cultivares Arapey INIA, Beauregard, Covington, Gem, Jewel, Morada INTA, clon “Mechada”,



Micropropagación *in vitro*.

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Patología Vegetal “Ing. Agr. Sergio Fernando Nome” (IPAVE), Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP), Av. 11 de Setiembre 4755. Bº Cárcano, X5020ICA Córdoba, Argentina.

Boni INTA, Okinawa 100, Colorado INTA y Famaillá 6, para su distribución en las regiones productoras argentinas, además de clones promisorios aún no inscriptos, de interés local, cuya liberación de virus y multiplicación fue demandada por sus obtentores (San Pedro 1, Arapey Precoz, San Pedro 3, Bonita, Pionera, Paraguaya, Porá y Blanca Riachuelo 10-16).



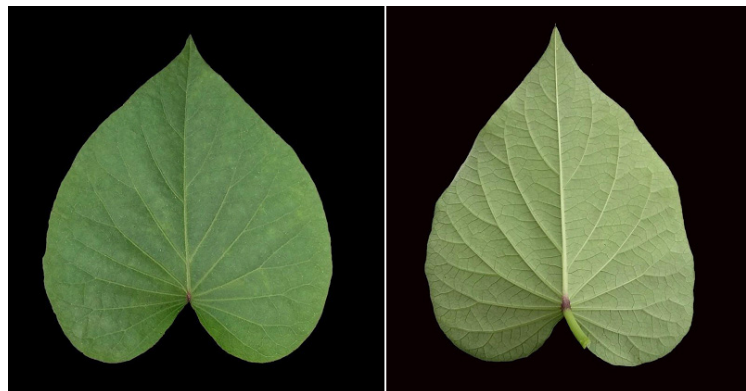
Macropropagación en jaulas antiáfidos en invernadero.

Arapey INTA

- Variedad de batata obtenida por el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria de Uruguay (INIA) inscripta en Argentina por el INTA.
- El ciclo es corto a mediano (90 a 120 días) y con alto rendimiento (más de 30 t/ha). Más precoz que el clon "Mechada" y que Morada INTA.
- Las hojas son cordadas, de color verde y los tallos, también verdes, presentan tintes morados en los nudos y donde se insertan los pecíolos.
- Compite bien con las malezas, debido a su buen desarrollo vegetativo.
- Las batatas son de forma elíptica alargada, con piel morada y pulpa amarilla con tintes anaranjados.
- Ha sido probada en todas las regiones productoras de Argentina con excelentes resultados, y es una de las variedades más cultivadas en el país.
- Más susceptible a "peste negra" (*Plenodomus destruens*) que Morada INTA.



Módulos de multiplicación en el campo experimental del IPAVE-CIAP-INTA ("semilla" certificada de segunda multiplicación).



Batatas provenientes de propágulos de sanidad controlada, producidos en IPAVE-CIAP-INTA.

Morada INTA

- Cultivar tradicional, creado hace más de treinta años en la Estación Experimental San Pedro del INTA (Obtentores: Adolfo Boy y Pablo Bianchini).
- Continúa vigente por su alta productividad, excelente sabor y muy buena conservación en condiciones de campo.
- Su ciclo de cultivo es de 150 días.
- Los tallos son de color verde y morado y las hojas pentalobadas, de color verde.

- Sus raíces tuberosas son más bien cortas, engrosadas en su parte central y de muy buena forma.
- De textura seca, las batatas poseen piel lisa y de atractiva coloración morada. En el interior, la pulpa es de tonalidad amarilla cremosa, con inclusiones anaranjadas (cinco puntos).
- Con sobresaliente conservación en las clásicas pilas, o en los silos a campo, lo que permite regular la oferta para aprovechar mejor los precios.
- En pruebas de industrialización se ha comprobado su buena aptitud para la elaboración de dulce, mostrando ventajas debido a la forma regular de las raíces, lo que significa menor tiempo de pelado y economía de mano de obra en la cinta transportadora.



Clon "Mechada"

- Clon originado por mutación de Morada INTA.
- Con guías más cortas que Morada INTA, pero similares características de hoja.
- Sus raíces tuberosas son más bien cortas, engrosadas en su parte central.
- Posee piel más oscura que Morada INTA y pulpa cremosa con una mancha o mecha central de color morado, que le da su nombre.
- Muy requerida en Córdoba, pues las características de su piel y buen comportamiento en su almacenamiento bajo tierra la hacen más apta para el mercado.



Okinawa 100

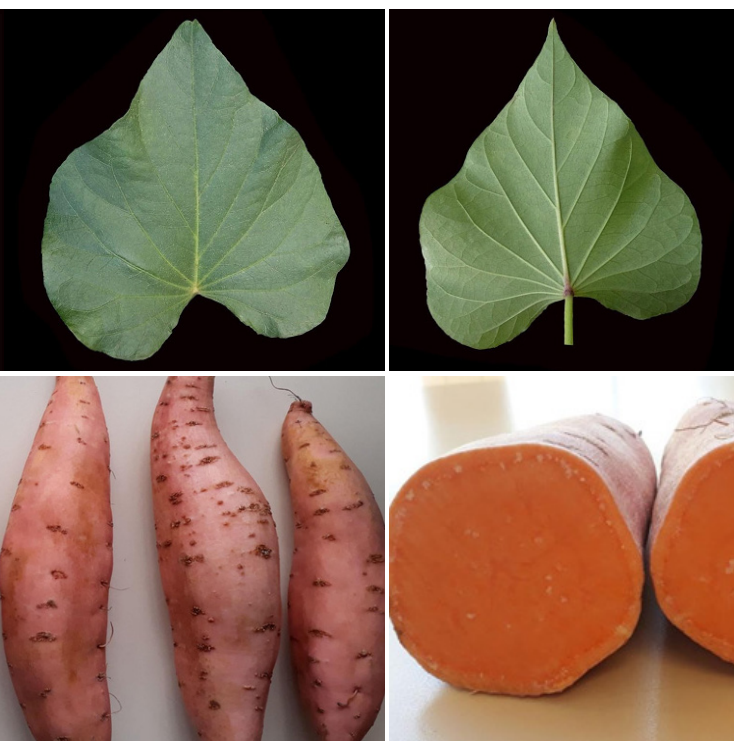
- Es de origen japonés. Introducida en el norte de China por los japoneses, durante la Segunda Guerra Mundial, reemplazó a muchos cultivares que allí eran comunes.



- Hojas completamente verdes y cordiformes, con nervaduras verdes en ambas caras.
- Es de ciclo similar a Morada INTA (150 días) y de muy buen rendimiento, pero menos dulce que esta.
- Raíces tuberosas con piel de color crema y pulpa blanca.
- Posee gran adaptación, es susceptible a podredumbre de raíz (*Fusarium* spp.).

Beauregard

- Es la variedad más utilizada en EE. UU., obtenida en la Estación Experimental Agrícola de Louisiana, en 1987 e inscrita por INTA en Argentina.
- En ensayos realizados en INTA San Pedro se ha destacado por su precocidad (madura en 105-110 días, dependiendo de la localidad) y rendimiento (superiores a 30 t/ha), con muy poco agrietamiento.
- Los tallos son de color verde y las hojas adultas son enteras, cordiformes, elongadas y terminadas en punta, con nervaduras verdes en ambas caras. Las hojas jóvenes presentan tonalidades moradas.
- Tiene una mancha púrpura en la base de la vena central del envés de la hoja, no presente en Covington.
- Las batatas son fusiformes a ovoides y de textura húmeda. Presentan piel fina de color rosado pálido a cobrizo y la pulpa es totalmente anaranjada, por alta concentración de betacaroteno, precursor de la vitamina A. Su relación longitud/diámetro es de 2:5. Es una variedad versátil, apta para hornear, hervir, hacer puré o freír.



- Es tan resistente a la podredumbre del pie (*Fusarium oxysporum*) como Jewel y Covington y moderadamente resistente a *Streptomyces ipomoea* (igual que Covington).
- Susceptible a la raza russet crack de *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV) y al nematodo *Meloydogine incognita* en EE. UU.
- Buen comportamiento en almacenamiento, similar a Covington, aunque su piel delicada requiere un manejo cuidadoso.
- En términos de poscosecha, es resistente a la podredumbre blanda causada por *Rhizopus*.
- Es un cultivar recomendado para exportación, ya que reúne las cualidades exigidas por el mercado internacional.
- Beauregard y Covington poseen similares niveles de grasa, proteína, cenizas, carbohidratos totales, fibras, azúcares reducidos y betacarotenos.

Covington

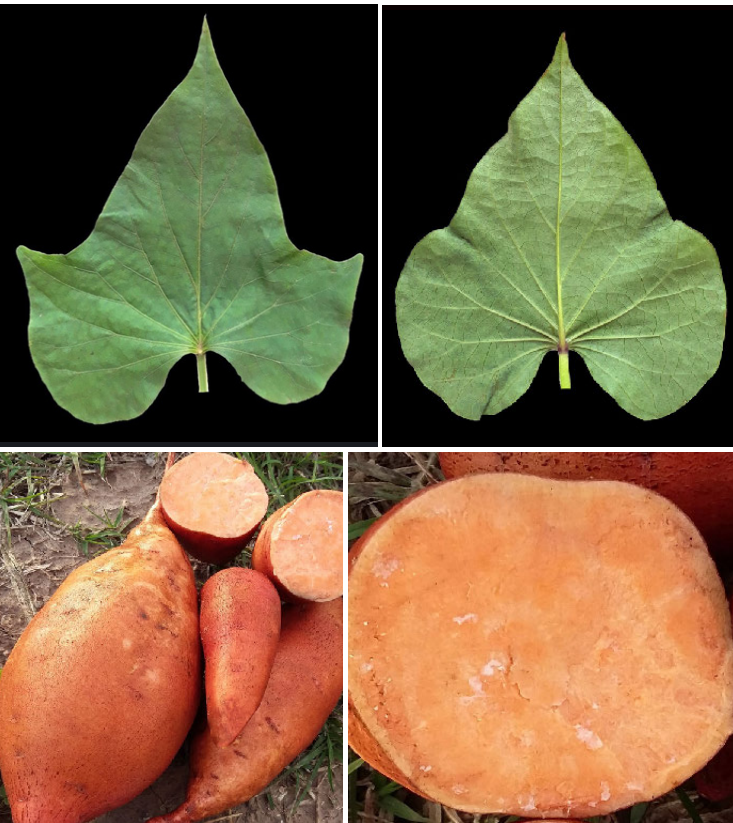
- Variedad de origen norteamericano, desarrollada en la Universidad de Carolina del Norte, EE. UU.
- La cosecha es a los 105 a 115 días después del trasplante.
- Los tallos son gruesos y verdes con pocas ramificaciones, en comparación con Beauregard. Por su canopia densa y algo vertical, compite bien con las malezas.
- Sus hojas son cordadas a triangulares, verdes cuando maduran. Las hojas jóvenes difieren ligeramente de las de Beauregard por su pigmentación púrpura más intensa.
- No tiene una mancha púrpura en la base de la vena central del envés de la hoja, lo que la diferencia de Beauregard.
- Las batatas son oblongas, elípticas a elípticas redondas, con una tasa longitud/diámetro promedio de 2:1; poseen piel lisa, de color rosado suave a medio, que tiende a oscurecerse en el almacenamiento, y pulpa anaranjada uniforme, similar o ligeramente más suave que la de Beauregard. Muy dulces cuando cocidas, por lo que se usan en acompañamientos y postres.
- Las raíces tuberosas tienen tamaño uniforme y mayor contenido de materia seca que Beauregard (promedios de 19,7 % + 0,3 % vs. 18,7 % + 0,3 %, en Carolina del Norte, EE. UU.).
- Sin registros de infección con la raza russet crack de *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV) en EE. UU.
- Es resistente a *Fusarium oxysporum* y al nematodo *Meloydogine incognita*. Moderadamente resistente a *Streptomyces ipomoeae*.
- En términos de poscosecha, es más susceptible a *Rhizopus* que Beauregard.
- Buen comportamiento en almacenamiento (sin mayores pérdidas por deshidratación y por podredumbre,

cuando las raíces se conservan a 85 % de humedad relativa y a 15,5 °C. Bajo estas condiciones las raíces permanecen comercializables por varios meses, al igual que en Beauregard).

- Posee rendimientos similares a los de Beauregard, pero madura 5 a 10 días luego de esta.
- El contenido de materia seca (20 %) de las raíces tuberosas es ligeramente mayor que el de Beauregard y supera a ese cultivar en contenido de almidón, de azúcares totales y en grados Brix.
- Sus raíces cocinadas al horno tienen muy buen sabor, con un puntaje igual o mejor que Beauregard.

en cada extremo, poseen piel color cobre claro y pulpa anaranjado intenso, húmeda y tierna cuando se cocina. Es una de las batatas más versátiles, apta para hornear, para cocinar al vapor y para elaborar los guisos tradicionales; se destaca en las ensaladas por su color intenso.

- Cuando está cocida, la pulpa es de color amarillo anaranjado brillante y ofrece una textura húmeda, almidonada y esponjosa.
- Resistente a *Fusarium oxysporum* y al nematodo *Meloidogine incognita*.
- Susceptible a *Streptomyces ipomoeae*.

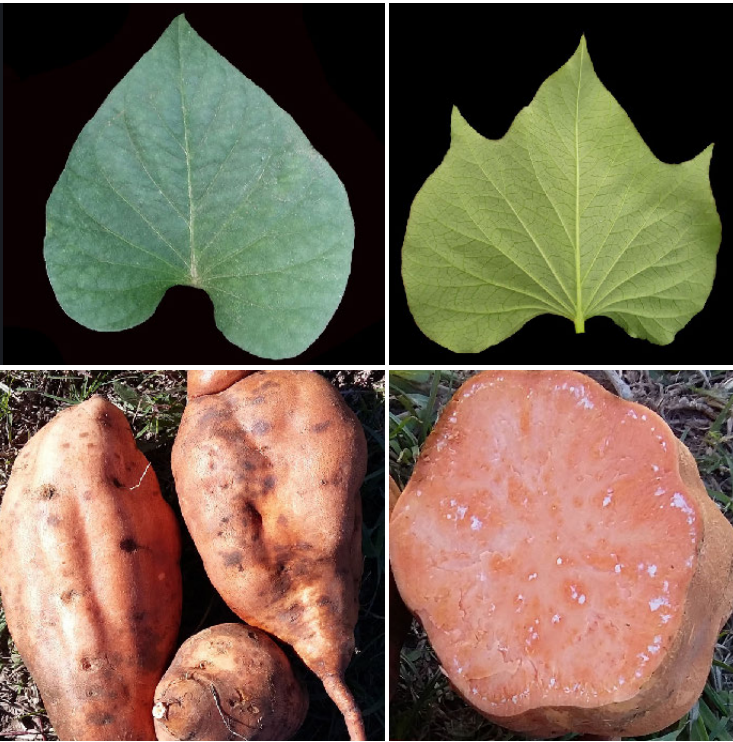


Jewel

- Variedad creada en la Universidad del Estado de Carolina del Norte, EE. UU., a mediados del siglo xx. Considerada la "reina de las batatas" por mucho tiempo.
- Junto con Beauregard, es una de las variedades más comúnmente cultivadas y consumidas por el mercado estadounidense.
- Necesita 120-135 días para obtener máxima producción y posee muy buen rendimiento (seis batatas por planta).
- Las batatas, moderadamente cortas y gruesas, de forma ovalada y cilíndrica que se estrecha ligeramente

Gem

- Variedad de origen norteamericano (Estado de Carolina del Norte).
- Junto con Beauregard es de los cultivares más precoces, pudiendo cosecharse luego de los 100 días.
- Los tallos son verdes al igual que las hojas. Presenta dimorfismo foliar, con hojas cordadas y lobuladas dentro de una misma planta.
- Las batatas poseen piel y pulpa de color anaranjado suave. Muy dulces.



Boni INTA

- Nueva variedad obtenida en INTA San Pedro por Héctor Martí, en 2016.
- Se originó de semillas producidas en el INTA El Colorado, Formosa, producto del libre cruzamiento de 30 progenitores en jaula de *polycross*. En 2009, se sembró la semilla así obtenida en el INTA San Pedro y, a partir de una planta con características promisorias, se realizó selección clonal por aproximadamente siete años.
- Muy precoz y con excelente rendimiento. Cuando se cosecha entre los 110 y 120 días, los rendimientos se ubican entre 25 a 35 t/ha, mientras que a los 150 días estos ascienden a 50 t/ha.
- La planta de Boni INTA posee porte semierecto, con ramas principales de hasta 1,5 metros, con follaje abundante que determina una alta cobertura de suelo (75 a 90 %) a los 35-40 días.
- Sus tallos son de color verde, sin tonalidad secundaria, con el ápice moderadamente pubescente.
- Las hojas tienen un tamaño mediano, son cordadas o en algunos casos lobuladas, presentándose ambas en una misma planta. De color verde claro, a veces con las nervaduras parcialmente moradas en el envés.
- Batatas de textura semihúmeda, forma oblonga alargada, piel y pulpa de color anaranjado pálido. Presenta aproximadamente siete batatas por planta, sin agrietamiento ni oxidación al cortarlas.

- Se destaca su capacidad antioxidante, 35 % superior al de Beauregard.
- Debido al parecido de los colores de piel y pulpa, no se ve tan afectado su aspecto si se pela como consecuencia del manipuleo y almacenamiento. Además, es moderadamente dulce y, en pruebas de dos años con consumidores, tuvo una aceptación similar a Morada INTA.



Colorado INTA

- Cultivar liberado en 2010 por la EEA San Pedro. Seleccionada por sus sobresalientes cualidades como producto saludable (obtentor: Héctor Martí).
- Tiene mayor concentración de beta-carotenos, antocianinas y contenido de fenoles totales que las variedades Morada INTA y Arapey INIA (mayor poder antioxidante).
- De ciclo corto como Arapey y Beauregard y rendimiento similar.
- Los tallos son verdes y morados. Presenta dimorfismo foliar, con hojas triangulares y pentalobuladas en la misma planta, con nervaduras moradas en la cara inferior.
- Las batatas, de textura semihúmeda, presentan piel color rojo-morado y pulpa anaranjada con inclusiones moradas.
- En Entre Ríos, Tucumán, San Pedro y Luján de Cuyo tuvo altos rendimientos, con un máximo en Feliciano, Entre Ríos (53 t/ha).
- Los resultados indican que es un material que se adapta bien a situaciones diferentes de clima y suelo.



Famaillá 6

- Liberada comercialmente por EEA INTA Famaillá, prov. de Tucumán.
- Precoz y de alto rendimiento.
- Guías de color verde y hojas cordiformes verdes.



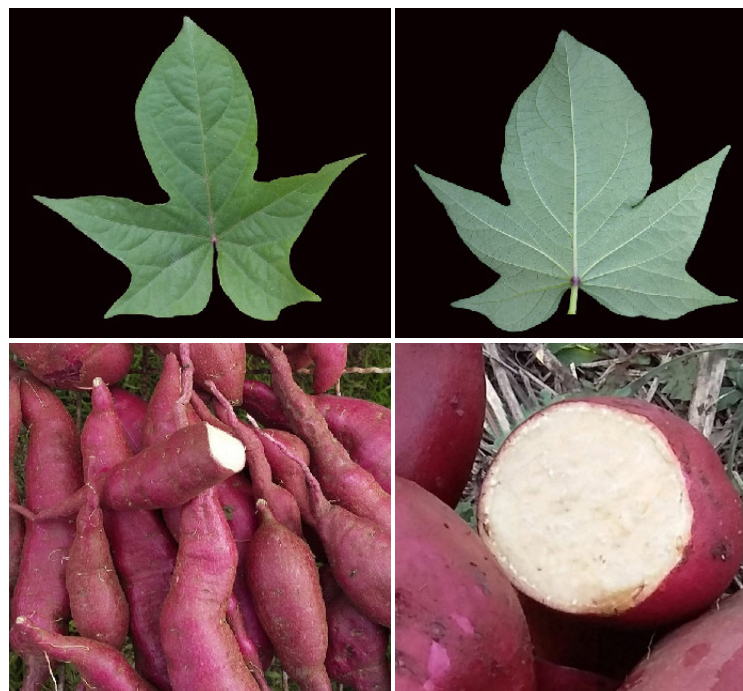
- Raíces fusiformes, de color de piel y pulpa blanco.
- Pulpa de consistencia cremosa.
- Demandada en la zona productora de batata de Tucumán. Se la utiliza para elaboración de dulces.

Clones promisorios, seleccionados en Argentina

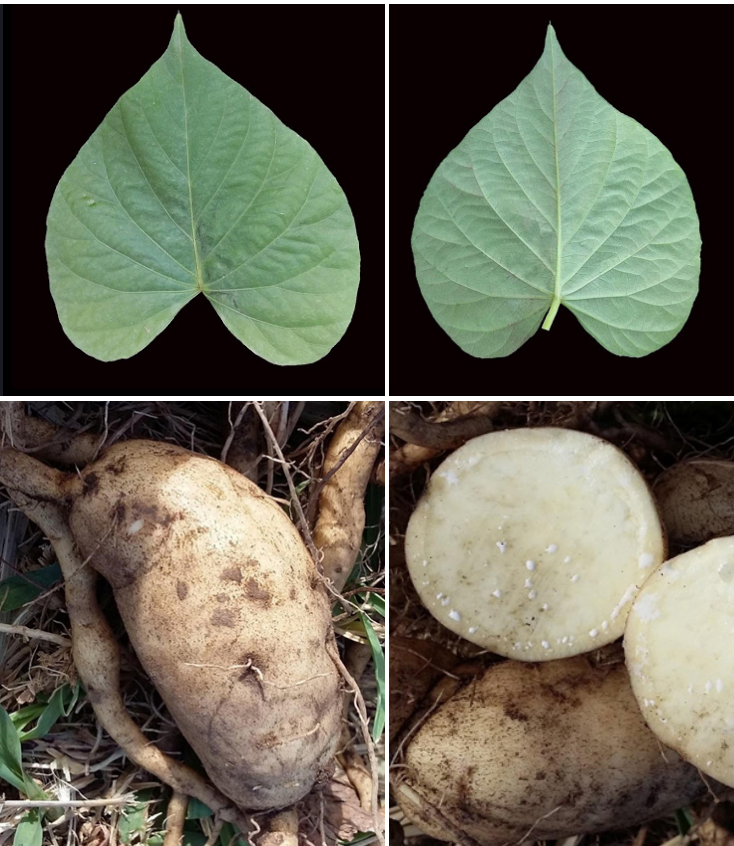
Estos clones, con cualidades sobresalientes, aún no han sido descritos e inscriptos por sus obtentores. Entre ellos, se destacan: **Paraguaya**, preferida en Tucumán, con piel morada, pulpa blanco crema y hojas pentalobuladas; los clones seleccionados por el Agr. Rodolfo Pletsch (exprofesional de AER INTA El Sombrero, Corrientes): **Bonita** (de piel y pulpa blanca, hoja cordiforme), **Pionera** (piel y pulpa blanco-amarillento, hoja pentalobulada, con forma de "espuela", lo que le dio originalmente el nombre de "Espuelita"), **Porá** (piel rosado intenso y pulpa anaranjada, hoja triangular con tres puntas), **Blanca Riachuelo 10-16** (piel y pulpa blanca, precoz y con alta producción, hoja triangular). En San Pedro, prov. de Bs. As., se destacan los clones seleccionados por el Sr. Jorge Taurizano y provisoriamente denominados **Arapey Precoz**, con características similares a Arapey INIA, pero de ciclo muy corto, **San Pedro 1**, con hojas cordiformes, verdes y nervaduras del envés de la hoja de color violáceo, raíces tuberosas con piel púrpura intenso y pulpa anaranjada, y **San Pedro 3**, con raíces de piel cobriza y pulpa anaranjada, y hojas cordiformes.

Los mencionados clones poseen características de rendimiento, culturales y organolépticas que los hacen promisorios para consumo directo o industria.

Paraguaya



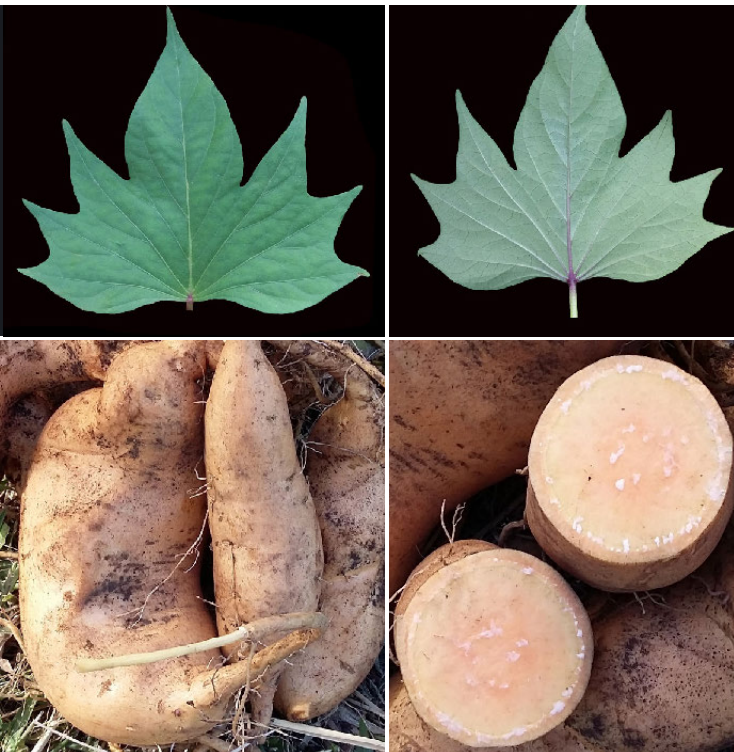
Bonita



Porá

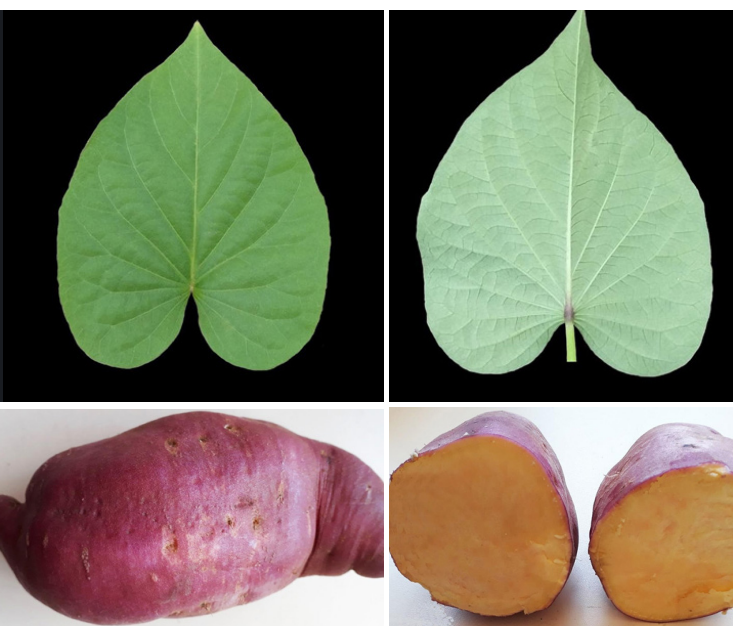
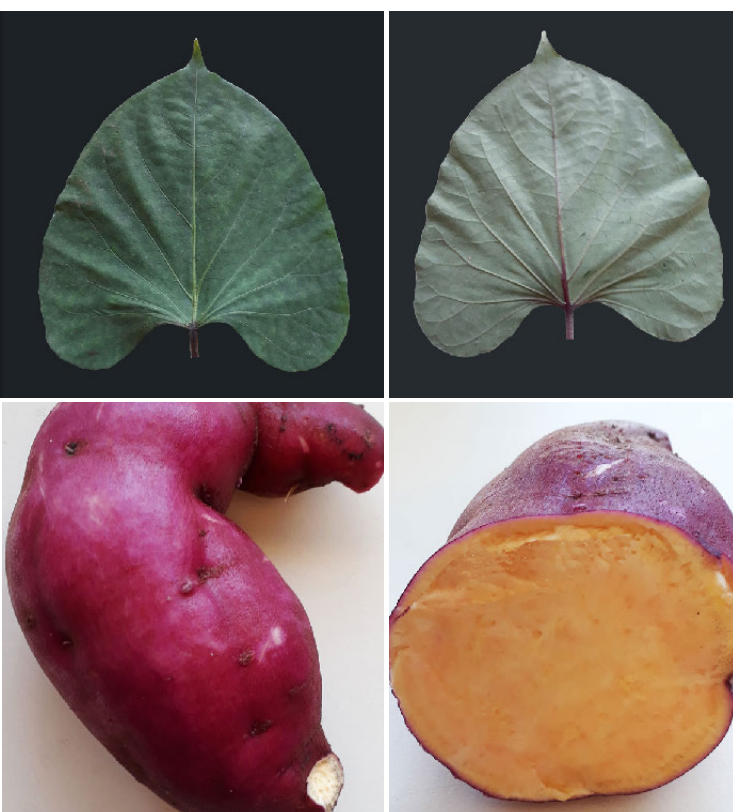


Pionera



Blanca Riachuelo 10-16



Arapey precoz**San Pedro****San Pedro 3****BIBLIOGRAFÍA**

BAILEYWE. (PRODUCE COMPANY). 2012. Sweet potatoes. Disponible: <http://www.sweetpotatoes.com/About/VarietiesandBotanicalInformation.aspx> verificado: 29 de enero de 2019.

CUSUMANO, C.; ZAMUDIO, N. 2013. Manual técnico para el cultivo de batata (camote o boniato) en la provincia de Tucumán (Argentina). Programa Nacional de Hortalizas, Flores y Aromáticas. Ediciones INTA. 1.ª Edición. Famaillá. 48 p.

DI FEO, L. 2015. Producción, Multiplicación y Manejo de Propágulos de Batata de Sanidad Controlada. Editores: Secretaría de Ciencia y Tecnología. Min. de Industria, Comercio y Desarrollo Científico Tecnológico. Gob. de Córdoba. Programa PROTRI. 78 p. Disponible: <http://inta.gov.ar/documentos/produccion-multiplicacion-y-manejo-de-propagulos-de-batata-de-sanidad-controlada> verificado: 28 de agosto de 2018.

ERNEST, D. 2014. Growing beauregard sweet potatoes. Disponible: <https://www.diyenetwork.com/how-to/outdoors/gardening/growing-beauregard-sweet-potatoes>

INTA INFORMA. 2016. Mejoramiento genético: Boni INTA, la batata de piel naranja. Disponible: <http://intainforma.inta.gov.ar/?p=33255> verificado: 31 de enero de 2019.

MARTÍ, H.R.; CORBINO, G.B.; CHLUDIL, H. 2011. La batata: el redescubrimiento de un cultivo. *Ciencia Hoy* 21: 17-23.

MARTÍ, H.R.; MITTIDIERI, M.; DI FEO, L.; SEGADE, G.; CONSTANTINO, A. 2014. Producción agroecológica de batata para el gran cultivo y la huerta familiar. Ediciones INTA. 1.ª Edición. San Pedro, Buenos Aires. 80 p.

MELISSA'S. THE FRESHEST IDEAS IN PRODUCE. 2019. Jewel Sweet Potatoes. Disponible: <https://www.melissas.com/Jewel-Sweet-Potatoes-p/227.htm> verificado: 31 de enero de 2019.

ROLSTON, L.H.; CLARK, C.A.; CANNON, J.M.; RANDLE, W.M.; RILEY, E.G.; WILSON, P.W.; ROBBINS, M.L. 1987. "Beau-regard" sweet potato. *HortScience* 22: 1338-1339.

SIXTEEN SHADES OF SWEET: A SWEET POTATO GUIDE. Disponible: <https://www.saveur.com/gallery/16-Shades-of-Sweet#page-17> verificado: 30 de enero de 2019.

YENCHO, G.C.; PECOTA, K.V.; SCHULTHEIS, J.R.; VANESBROECK, Z.P.; HOLMES, G.J.; LITTLE, B.E.; THORNTON, A.C.; TRUONG, V.D. 2008. "Covington" Sweetpotato. *HortScience* Vol.43(6): 1911-1914.

Mejoramiento genético del perfil de ácidos grasos del aceite de maíz

Delucchi, C.; Percibaldi, M.; Trejo, M.; Eyhérbide, G.

Caracterización de la resistencia al pulgón verde de los cereales (*Schizaphis graminum*) en cultivares de cebada bajo condiciones controladas

Tocho, É.; Tacaliti, M.S.; Musa, A.; González, G.A.; Moreyra, F.; Giménez, F.

Actividad forrajera de *Acromyrmex striatus* (Roger, 1863) (Formicidae: Attini) en un viñedo orgánico en Mendoza, Argentina

Dagatti, C.V.; Bernabé, A.L.; Rossi, L.; Becerra, V.C.

Tendencias y equitatividad de los principales cultivos extensivos en el centro de la provincia de Buenos Aires

Bocchio, V.; Requesens, E.; Mestelan, S.

Evaluación sensorial del topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) como alimento

Ibarguren, L.; Calderon, M.; Tessaro, S.; Bertona, A.; Reborá, C.

Reduction of liver abscesses in feedlot cattle by the addition of tannins on diet

Cabral, C.; Redondo, E.A.; Delgado, F.

Efecto de la aclimatación a la intensidad lumínica en vivero sobre el desempeño postrasplante de plántulas de *Austrocedrus chilensis*

Letourneau, F.J.; Namiot, G.; Perdomo, M.H.; Basil, J.G.

Efecto de diferentes tipos de cosecha sobre la calidad tecnológica de la fibra de algodón en cultivos de alta densidad

Tarragó, J.R.; Colli, S.L.; Nadal, N.J.; Gimenez, L.

Aplicación de compost de cama profunda porcina: calidad de suelo y producción de soja (*Glycine max* L.)

Pegoraro, V.R.; Bocolini, M.F.; Baigorria, T.; Rizzo, P.; Lorenzon, C.; Cazorla, C.R.

Conservación *ex situ* de variedades de papas nativas. Caso de estudio de la variedad 'Collareja' del noroeste de la Argentina

Atencio, H.M.; Ispizúa, N.V.; Feingold, S.; Clausen, A.M.

Evaluación de la intersembrado de rúcula (*Eruca sativa* Mill.) y lechuga (*Lactuca sativa* L.) en Colonia Benítez, Chaco

Shindoi, M.M.J.F.; Avico, E.L.; Sarco, P.C.; Monteros Solito, D.E.

Metodología para el registro, seguimiento y monitoreo de la entrega de semilla y realización de huertas en San Pedro, provincia de Buenos Aires (Argentina)

Piola, M.; Hansen, L.; Liljestrom, V.; Marcozzi, P.

Estimación de la función de daño potencial y nivel de daño económico de *Caliroa cerasi* L. (Hymenoptera: tenthredinidae) en el Valle Inferior del Río Chubut (región Patagonia sur, Argentina)

Bado, S.G.

Insecticidas con posibilidad de registro en cereza en Argentina y sus implicancias para la exportación de frutas frescas

Cichon, L.; Araque, L.; Garrido, S.; Lago, J.; Cuello, N.

Hongos endófitos en festuca alta: del problema a las soluciones

Petigrosso, L.R.; Gundel, P.; Colabelli, M.N.; Fernandez, O.N.; Assuero, S.G.



Secretaría
de Agroindustria



Ministerio de Producción y Trabajo
Presidencia de la Nación