

Nota técnica

Selección cualitativa del esqueje en la sobrevivencia y desarrollo morfo genético de *Vanilla planifolia* Andrews¹

Qualitative selection of cuttings of *Vanilla planifolia* Andrews on the survival and morphogenetic development

José Bernal Azofeifa-Bolaños², German Rivera-Coto³, Amelia Paniagua-Vásquez⁴, Roberto Cordero-Solórzano⁵

Resumen

En Costa Rica, es necesario un programa nacional de conservación *ex situ* para *Vanilla planifolia* por su rareza, peligro de extinción en condiciones silvestres y por la importancia económica que la ubica como la orquídea más rentable del mundo. Ante la falta de investigación sobre la conservación de especies silvestres y la importancia de evaluar el desempeño agronómico de dichos materiales, como estrategia para incrementar la reducida base genética de los cultivos, el objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad de aclimatización y el desempeño morfo genético de esquejes procedentes de individuos de una población silvestre de *V. planifolia* en condición de invernadero. Se evaluaron dos tratamientos: 1) esquejes seleccionados de forma cualitativa de acuerdo con su calidad fitosanitaria, daño mecánico y vigorosidad, y 2) esquejes sin selección. Las variables que se evaluaron fueron: porcentaje de sobrevivencia, peso, longitud, número de nudos del brote nuevo y del explante original, número y peso de las raíces. La sobrevivencia de los seleccionados fue mayor (60%) respecto a los que no lo fueron (45%). Las respuestas morfo genéticas de los esquejes seleccionados fueron estadísticamente significativas para todas las variables evaluadas. Es la primera vez que se informa de un proceso de aclimatización y desempeño morfo genético en invernadero para individuos con un genotipo conocido de *V. planifolia* en Costa Rica. Por lo cual, es el primer intento para conservar *ex situ* la especie como parte de un programa integral que busca la conservación *in situ* de forma sistemática y sustentable, así como, los primeros valores de la vigorosidad para algunas variables de crecimiento, fuera de condiciones naturales.

Palabras claves: vainilla, Costa Rica, especies silvestres, potencial agronómico.

Abstract

In Costa Rica, an urgent *ex situ* national conservation program for *V. planifolia* is needed due to the rarity, high risk of extinction in the wild and the economic importance; that places it, as the most profitable orchid worldwide.

¹ Recibido: 1 de febrero, 2018. Aceptado: 30 de mayo, 2018. Este trabajo formó de los resultados de la tesis del primer autor del Programa de Maestría Académica en Manejo de Recursos Naturales de la Universidad Estatal a Distancia con énfasis en gestión de la Biodiversidad. El trabajo fue realizado en el Instituto de Investigación y Servicios Forestales de la Universidad Nacional (UNA), Heredia, Costa Rica.

² Universidad Nacional (UNA), Heredia, Costa Rica. jb12azo@gmail.com

³ Universidad Nacional (UNA), Escuela de Ciencias Agrarias, Heredia, Costa Rica. grivera@una.ac.cr

⁴ Universidad Nacional (UNA), Instituto de Investigación y Servicios Forestales, Heredia, Costa Rica. amelia.paniagua.vasquez@una.cr

⁵ Universidad Nacional (UNA), Escuela de Ciencias Biológicas, Heredia, Costa Rica. roberto.cordero.solorzano@una.cr



Due to the lack of research about wild species conservation and the importance to evaluate the agronomic performance of the wild-type relatives, as a strategy to increase the reduced genetic variability, the aim of this research was to evaluate the acclimatization capacity and morphogenetic performance of wild *V. planifolia* under nursery conditions. The effect of two treatments 1) qualitatively selected cuttings according to their phytosanitary quality, mechanical damage and vigorousness and 2) cuttings without selection, were evaluated. Some growth variables were evaluated: survival rate, weight, length, number of nodes of the new and original shoot; number and weight of the roots. The survival of the selected cuttings was greater (60%) than those that were not (45%). The morphogenetic responses of the selected explants were statistically significant for all variables evaluated. This is the first time that an initial process of acclimatization and morphogenetic performance with a known genotype individual of *V. planifolia*, is reported under greenhouse condition, in Costa Rica. Therefore, it is the first attempt to the *ex situ* conservation of the species as a part of an integrated program focus on the *in situ* conservation in a systematic and sustainable way, as well as, the first values of the vigorousness to some growth variables out of natural conditions.

Keywords: vanilla, Costa Rica, wild species, agronomic potential.

Introducción

El 10% de las especies de vainilla conocidas están registradas en Costa Rica, lo cual convierte al país en el más diverso de Mesoamérica (Azofeifa-Bolaños et al., 2017; Karremans y Lehmann, 2018). En términos generales, el sabor y aroma natural de vainilla es producido durante el proceso de beneficiado de las cápsulas de *V. planifolia*, *V. pompona* y *V. × tahitensis*. Sin embargo, el 95% de la producción proviene de *V. planifolia*. Por este motivo, es la especie más cultivada y, por tanto, la orquídea con mayor impacto económico del mundo, solo superada por el azafrán en el mercado de las especias (Havkin-Frenkel y Belanger, 2007).

El acervo genético de las vainillas silvestres de Costa Rica, está conformado por *V. costaricensis* Soto Arenas, *V. dressleri* Soto Arenas, *V. hartii* Rolfe, *V. helleri* A.D. Hawkes, *V. inodora* Schiede, *V. karen-christianae* Karremans y P. Lehm, *V. odorata* C. Presl, *V. planifolia* Andrews, *V. pompona* Schiede, *V. sarapiquensis* Soto Arenas, *V. sotoarenasii* M. Pignal, Azof.-Bolaños & Grisoni y *V. trigonocarpa* Hoehne. (Azofeifa-Bolaños et al., 2017; Karremans y Lehmann, 2018). En consecuencia, el país cuenta con poblaciones silvestres de dos de las tres especies con mayor importancia en el mundo. Esto refleja el uso potencial que se le podría dar a este tipo de recursos genéticos, y abre la posibilidad de generar materiales promisorios para diversas unidades productivas en otras regiones agroclimáticas adecuadas para el cultivo.

La búsqueda de parientes silvestres de *V. planifolia* es relevante para incrementar la variabilidad genética natural de la especie. Por este motivo, a partir del 2012, la Universidad Nacional de Costa Rica (UNA) inició la estrategia integral de conservación *ex situ* del género en invernaderos acondicionados en la localidad de Barva de Heredia (Azofeifa-Bolaños et al., 2014), la cual pretende conservar los recursos genéticos primarios conformados por los especímenes silvestres y los cultivares de *V. planifolia* y el acervo genético secundario, el cual cuenta con especies que poseen rasgos deseables que podrían incorporarse en el cultivo.

Este plan de manejo *ex situ* es necesario, debido a las condiciones críticas de conservación de esta especie en estado silvestre (Soto-Arenas y Solano-Gómez, 2007; Soto-Arenas, 1999), donde el número de individuos encontrados es mucho menor que la cantidad mínima recomendada para el mantenimiento de poblaciones viables (Soto-Arenas, 1999; Soto, 2006). Esta situación, es ocasionada por la deforestación, colectas excesivas para el establecimiento de nuevas plantaciones, inadecuados manejos del cultivo (Bory et al., 2008a), cambios climáticos, enfermedades en monocultivos que ocasionan la pérdida total de las plantaciones (Divakaran et al., 2006) y la falta de esfuerzos de conservación (Verma et al., 2009).

En la costa del Caribe de Costa Rica se localizaron poblaciones naturales de *V. planifolia*, que se caracterizaron a nivel bioquímico, morfológico y molecular (Azofeifa-Bolaños et al., 2017). En este proceso una nueva especie de vainilla se registró y al menos diez individuos correspondieron a *V. planifolia*, de los cuales seis accesiones se encuentran en la colección de la Universidad Nacional (UNA) (Azofeifa-Bolaños et al., 2017). Posterior a las caracterizaciones antes mencionadas, la siguiente fase de la estrategia de conservación fue la caracterización agronómica del material silvestre en condición de invernadero (Azofeifa-Bolaños et al., 2014). No obstante, durante el establecimiento de individuos provenientes de poblaciones naturales hay aspectos de manejo que se deben considerar, entre ellos están: el grado de variabilidad genética, la condición fitopatológica de los esquejes, el daño mecánico durante el transporte, la edad fisiológica y ontogenética del material y el lugar de procedencia, entre otros.

A pesar de la relevancia que tiene el hallazgo y caracterización taxonómica de parientes silvestres de *V. planifolia*, este es el primer trabajo en Costa Rica que evalúa la capacidad de aclimatización y el desempeño morfogénico inicial en invernadero para individuos procedentes de poblaciones silvestres. La información sobre aspectos iniciales de manejo agronómico para este tipo de germoplasma, fuera de su hábitat natural, es una necesidad al ser materiales raros, únicos y valiosos. Además, para poder incorporar este germoplasma nativo en futuras plantaciones comerciales, este trabajo propone como procedimiento fundamental, la selección de los esquejes de forma cualitativa de acuerdo con su calidad fitosanitaria, daño mecánico y vigorosidad. En el caso de no realizar esta metodología de trabajo antes del establecimiento de plantaciones en invernadero, se puede incurrir en estimaciones erróneas de los valores morfométricos potenciales de cada individuo, así como, comprometer la conservación *in situ* de las poblaciones donantes.

Aunque se han realizado esfuerzos para conservar el acervo genético de *Vanilla* spp., en México, Costa Rica y Colombia (Azofeifa-Bolaños et al., 2014; Flanagan y Mosquera-Espinosa, 2016; Hernández-Ruíz et al., 2016), no existe información sobre la capacidad de aclimatización y algunas respuestas morfogénicas en etapas iniciales de establecimiento de individuos silvestres de *V. planifolia*, dentro de un programa de conservación integral a largo plazo. El objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad de aclimatización y el desempeño morfogénico de esquejes procedentes de poblaciones silvestres de *V. planifolia* en condición de invernadero.

Materiales y métodos

Se trabajó con esquejes provenientes de una población silvestre de Barra de Parismina, identificados mediante descriptores moleculares y ubicados en la colección de vainilla de la Universidad Nacional (UNA), Heredia, Costa Rica, con el código UNA-VAN-00229 (Azofeifa-Bolaños et al., 2017), con la finalidad de evaluar la capacidad de aclimatización y el desempeño morfogénico en condición de invernadero. Los explantes usados para el experimento se recolectaron y se establecieron en el invernadero en el 2015.

Los ensayos de este trabajo se realizaron en un invernadero del Instituto de Investigación y Servicios Forestales de la UNA (INISEFOR-UNA), Santa Lucía, Barva, Heredia (coordenadas geográficas aproximadas 10° 01' 21,93" N - 84° 06' 43,6 W), el cual fue acondicionado con sarán (malla al 50% de sombra). Las condiciones atmosféricas dentro del invernadero fueron en promedio de 81% de humedad con valores mínimos de 38,5% y máximos de 100% y una temperatura promedio de 23 °C que varió entre 17 y 39 °C. Se aplicó riego manual cada 72 horas. El tiempo de riego y el volumen aproximado de agua por planta fue de 20 s y 1 litro, respectivamente.

Se realizó un experimento que comparó la capacidad de aclimatización y las respuestas morfogénicas para algunas variables de crecimiento en explantes seleccionados por su condición fitosanitaria, vigorosidad y daño mecánico. Para ello, se conformaron dos poblaciones de trabajo: una con selección (esquejes verdes, sin daños fitopatológicos, ni daños mecánicos) y otra sin selección (esquejes verdes, con daños fitopatológicos y/o daños mecánicos) (Figura 1).

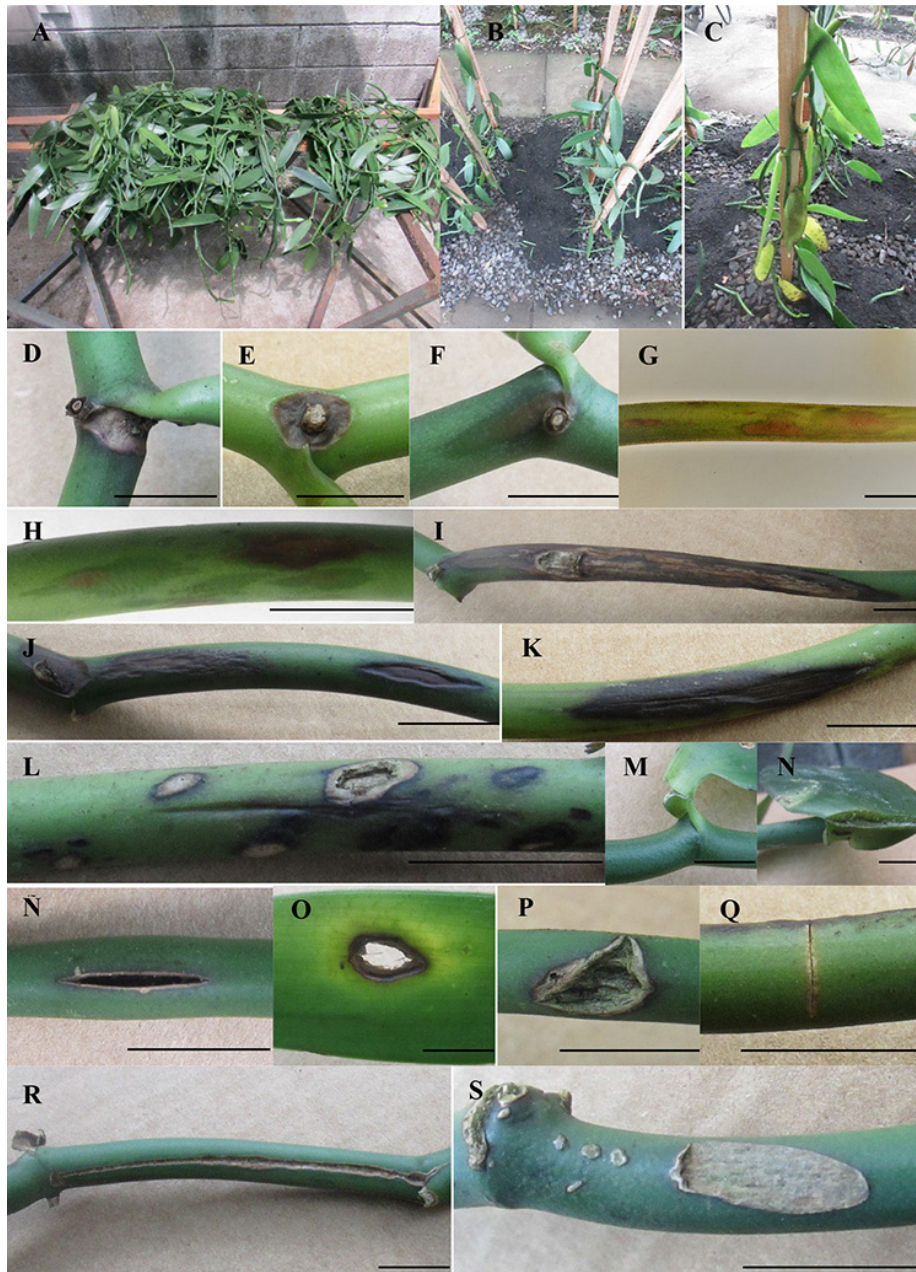


Figura 1. Esquejes de plantas silvestres de *V. planifolia*, empleados para el establecimiento en invernadero. Invernadero del Instituto de Investigación y Servicios Forestales de la Universidad Nacional, Santa Lucía, Barva, Heredia, Costa Rica, 2015. A. Explantes seleccionados por su salud, vigorosidad y ausencia de daños mecánicos. B. y C. Explantes con y sin selección, respectivamente, cultivados sobre un sustrato de piedra y arena, asociado a tutores de madera. D. - K. Explantes con daños ocasionados por problemas fitosanitarios. L. - S. Explantes con daños mecánicos (barra de escala: 1 cm).

Figure 1. Wild plant stem cuttings of *V. planifolia* used for the establishment in a greenhouse. Greenhouse of the “Instituto de Investigación y Servicios Forestales de la Universidad Nacional de Costa Rica”, Santa Lucía, Barva, Heredia, Costa Rica, 2015. A. Selected explants for their health, vigorousness, and absence of mechanical damages. B. and C. Explants with and without selection, respectively, cultivated on a substrate of stones and sand associated to artificial wooden tutors. D. - K. Explants with damages occasioned by phytosanitary problems. L. - S. Explants with mechanical damage (scale bar: 1 cm).

Se utilizó un diseño completamente al azar con 63 repeticiones para el tratamiento con selección y 49 repeticiones para el tratamiento sin selección. En total se cultivaron 112 esquejes en el invernadero, sobre un sustrato compuesto de arena y piedra de río con un tamaño máximo agregado de 25 mm, asociado a tutores artificiales de madera, durante seis meses (Figura 1B, 1C). Para evitar heterogeneidad en los resultados, las plantas usadas para cada tratamiento fueron uniformes en número de nudos (8), longitud y peso.

Para eliminar el efecto borde y garantizar que las plantas de cada tratamiento recibieran las mismas condiciones ambientales, los explantes fueron colocados al azar en los sustratos ubicados en el centro del invernadero.

Después del periodo de evaluación, se calculó el porcentaje de sobrevivencia y se midió el peso, la longitud y el número de nudos del brote nuevo, el peso y el número de raíces totales, y el número de nudos del explante inicial presentes luego de este periodo. Para la obtención del porcentaje de sobrevivencia se dividió el número de explantes sobrevivientes entre la cantidad inicial de explantes por 100. Para la obtención de los valores de peso, cada unidad experimental se colocó sobre una balanza electrónica, mientras que para la medición del diámetro y las longitudes se tomaron fotografías graduadas a cada unidad experimental. Los valores absolutos se obtuvieron con un analizador de imágenes. Para calcular la significancia estadística de las unidades experimentales se utilizó la prueba *t* de Student. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa SAS v9.4 (SAS Institute, 1994).

Resultados

Los resultados de esta investigación indicaron, el efecto del manejo inicial durante el establecimiento en invernadero de plantas procedentes de poblaciones silvestres. Las diferencias generadas por la selección se evidencian en el Cuadro 1, y proporcionan datos sobre las respuestas morfogénicas de algunas variables de crecimiento, con el solo seleccionar el estado del material escogido.

El porcentaje de sobrevivencia fue mejor en las plantas seleccionadas (60%) en comparación con las que no lo fueron (45%). Aunque se presentó sobrevivencia en el tratamiento sin selección, y aun cuando los brotes generados permanecieron verdes y vigorosos de forma visible, las respuestas morfogénicas en todas las variables evaluadas fueron estadísticamente menores ($P \leq 0,0034$) que las obtenidas en el tratamiento con selección (Cuadro 1).

Cuadro 1. Medias (\pm error estándar) de las variables de crecimiento peso, longitud y número de nudos del brote nuevo y del explante inicial; peso y número de raíces totales de individuos procedentes de una población silvestre de *V. planifolia* según la selección inicial de esquejes durante el establecimiento en invernadero. Invernadero del Instituto de Investigación y Servicios Forestales de la Universidad Nacional, Santa Lucía, Barva, Heredia, Costa Rica, 2016.

Table 1. Mean number (\pm standard error) of the growth parameters weight, length, and number of nodes of the new and original shoot; number and weight of the roots of individuals from a wild population of *V. planifolia* plants according to the effect of an early cuttings selection during the greenhouse establishment. Greenhouse of the “Instituto de Investigación y Servicios Forestales de la Universidad Nacional de Costa Rica”, Santa Lucía, Barva, Heredia, Costa Rica, 2016.

Tratamiento	Brote			Raíces		
	Peso (g)	Longitud (cm)	Número nudos	Número nudos iniciales	Número	Peso (g)
Con selección (n=63)	63,29(3,90)	144,88(7,99)	19,37(0,94)	7,73(0,09)	20,08(1,03)	5,94(0,45)
Sin selección (n=49)	35,84(4,86)	91,61(10,14)	13,73(1,43)	4,27(0,24)	14,55(1,52)	3,19(0,49)
	<i>t</i> * (<i>p</i>)**	<i>t</i> (<i>p</i>)	<i>t</i> (<i>p</i>)	<i>t</i> (<i>p</i>)	<i>t</i> (<i>p</i>)	<i>t</i> (<i>p</i>)
	4,46(<0,0001)	4,19(0,0001)	3,29(0,0014)	13,7(<0,0001)	3,01(0,0034)	4,14(0,0001)

* Estadístico *t*. **Probabilidad asociada a la prueba *t* de Student, en negrita los valores significativos ($p < 0,05$) / **t* statistic. ** Student's *t*-test indicate *p*-values < 0.05. Significant values are shown in bold.

El peso, la longitud y el número de nudos del brote nuevo fueron 43,37%, 36,77% y 29,11% mayores cuando el explante fue seleccionado con respecto a los no seleccionados, respectivamente. Mientras que el número y peso de las raíces fueron 27,54% y 46,30% mayores respecto a los explantes sin selección. Después del proceso de evaluación, el número de nudos iniciales se redujo casi el doble (45%) cuando los explantes usados no fueron seleccionados. Todos los explantes seleccionados conservaron la cantidad de nudos durante el periodo de evaluación.

Discusión

Cuando se analiza la disponibilidad de información relacionada con el manejo de los recursos genéticos silvestres de *V. planifolia* en Costa Rica, en condición de invernadero, es evidente un vacío de información. Para contribuir con la conservación de la especie, así como indicar valores de referencia sobre el potencial organogénico durante el establecimiento fuera de condiciones naturales, se obtuvo un procedimiento de manejo que generó información básica sobre la capacidad de aclimatización y algunas respuestas morfogénicas de este material para ciertas variables de crecimiento en condición de invernadero.

Se obtuvieron valores de referencia para las variables peso, longitud, número de nudos del brote nuevo y del explante original, así como, del peso y longitud de las raíces, los cuales se podrían incorporar como parámetros agronómicos del potencial productivo que permita la toma de decisiones por parte de los curadores y mejoradores del cultivo. Puesto que, es la primera ocasión que se informan resultados de la capacidad de aclimatización y la respuesta en el crecimiento de esquejes para esta especie procedente de una población silvestre, los resultados sugieren la realización de una selección cualitativa del material de siembra por parte de las personas que pretendan incursionar en el establecimiento inicial del cultivo de vainilla. La ausencia de selección de esquejes podría tener como consecuencia la utilización de material contaminado, poco vigoroso y con daños mecánicos que perjudicará el crecimiento de la planta y, por tanto, pondrá en riesgo la sobrevivencia del material o retardará la obtención de la primera cosecha.

En lo que respecta a la variable número de nudos del brote nuevo, junto con la longitud del esqueje, los resultados indicaron que la selección de los esquejes aumentó de forma significativa el valor de estas dos variables, consideradas como los indicadores de producción más importantes de *V. planifolia* en México, pues la reducción del tiempo para la cosecha de los frutos está relacionado con la mayor cantidad de nudos (Baltazar-Nieto, 2010). Investigadores colombianos proponen el número de nudos como un indicador eficiente de otras variables dependientes o de respuesta como la longitud total, área foliar, biomasa total y variables radiculares (Arango y Moreno, 2011). Por lo tanto, la selección minuciosa del material de forma cualitativa y sin el uso de biocidas, es un parámetro a considerar por parte de los agricultores y curadores de las colecciones de vainilla.

Es importante sistematizar las estrategias iniciales de manejo de poblaciones silvestres de vainilla en condición de invernadero para la creación de medidas y acciones de conservación *ex situ* en el ámbito nacional y/o regional, que permitan contribuir de forma sistemática y sustentable con la conservación *in situ*, la cual, según Soto (1999), no parece ser una estrategia viable. No solo es necesario continuar con la búsqueda y recolección de individuos en estado silvestre para su conservación *in situ* y *ex situ*, sino también, desarrollar un protocolo de establecimiento para futuros ensayos de caracterización, manejo fitosanitario, fitomejoramiento y reintroducción en zonas de alta prioridad, entre otros.

La obtención de especímenes silvestres sin conocimiento previo de aspectos de manejo agronómico, puede comprometer la supervivencia de plantas, que ya se encuentran en peligro crítico de extinción (Soto-Arenas, 1999; Soto-Arenas y Solano-Gómez, 2007; Vega et al., 2017), además, puede provocar el traslado de problemas fitosanitarios a otras zonas (Rivera-Coto, 2017). Lo anterior, se agrava cuando la extracción es realizada por personas ajenas a las necesidades de conservación del género *Vanilla*, que recolectan materiales silvestres sin valor

comercial de especies morfológicamente similares a *V. planifolia*. En México, durante los años ochenta, la falta de asesoría sobre el conocimiento de los recursos genéticos en algunas regiones, ocasionó el establecimiento de plantaciones de *V. cribbiana*, *V. inodora*, *V. insignis*, *V. odorata* y *V. pompona*, aunque según Soto-Arenas y Solano-Gómez (2007), la intención era cultivar solo *V. planifolia*. Este desacierto se repite en Costa Rica donde se han dado situaciones similares, debido a falta de apoyo profesional o malas asesorías (Azofeifa-Bolaños et al., 2014).

Para contribuir con el manejo agronómico de la especie durante el establecimiento inicial de una plantación de vainilla en invernadero, se propone como procedimiento fundamental, la selección estricta del material de inicio de forma cualitativa, pues los resultados indicaron un aumento significativo para todas las variables de crecimiento evaluadas cuando los esquejes fueron seleccionados.

La recolección de material, conservación y evaluación del germoplasma es crítico, tanto en las zonas de distribución natural como en los centros de dispersión secundaria (Duval et al., 2006). Los esfuerzos para la búsqueda sistemática de parientes silvestres en Mesoamérica, son muy pocos (Azofeifa-Bolaños et al., 2014; Hernández-Ruíz et al., 2016) y no se conoce la diversidad intraespecífica de las vainillas costarricenses en relación con individuos de América Central y México. Aun así, la importancia del acervo genético primario de *V. planifolia* en Costa Rica es una prioridad, debido a la diversidad de genes que se podría aportar a la reducida base genética de las plantaciones comerciales, confirmada con varios estudios moleculares (Bory et al., 2008b; Lubinsky et al., 2008; Minoos et al., 2008).

Para el manejo de plantas silvestres es necesaria la evaluación de la aclimatización y el potencial agronómico en condiciones ambientales particulares, con el fin de determinar rasgos deseables para el fitomejoramiento. En Costa Rica, este es el primer trabajo que brinda datos sobre capacidad de aclimatización y el desempeño morfogenético. Para luego establecer individuos en un banco de germoplasma y determinar si existe homogeneidad intraespecífica respecto a los especímenes silvestres y cultivados de otras regiones. En el presente caso, lo fundamental fue preservar el material silvestre, el cual generó plantas homogéneas en cuanto a peso y longitud para ensayos subsecuentes. Aunque no se logró la totalidad de sobrevivencia, la selección cualitativa de los esquejes funcionó de forma convincente para multiplicar el material.

Cualquier estrategia técnica que evite la disminución de poblaciones silvestres de vainilla, es necesaria para salvaguardar los únicos y escasos recursos genéticos que existen en la zona de distribución natural de la especie. Antes de esta investigación, solo en México se había generado información sobre el número total de especímenes silvestres conocidos. Según Soto-Arenas y Solano-Gómez (2007), para 1997 el número de individuos genéticos conocidos era aproximadamente treinta, sin embargo, se advierte de la posibilidad de extinción de muchos de ellos ante la falta de esfuerzos de conservación, así como por los incendios ocurridos en 1998, la colecta excesiva de plantas silvestres, el abandono de plantaciones establecidas con plantas silvestres, la fragmentación del hábitat y por el asocio a zonas de alta población (Soto-Arenas, 1999; Bory et al., 2008a). Después de esas investigaciones llevadas a cabo hace más de dos décadas, solo en Costa Rica se han confirmado seis poblaciones silvestres de *V. planifolia*, las cuales se caracterizaron mediante descriptores morfológicos y moleculares (Azofeifa-Bolaños et al., 2017). Los primeros resultados de la capacidad de aclimatización a condiciones ambientales totalmente diferentes y la capacidad morfogenética de los individuos de la población de Barra de Parismina, sugieren un material promisorio para el establecimiento de unidades productivas en diferentes regiones del país.

Este primer intento de selección e intervención de individuos silvestres en condición de invernadero, ha brindado resultados prometedores, en particular si se piensa que existen bosques primarios sin explorar en la parte norte del Caribe, donde las expectativas sobre la distribución espacial de la especie, son altas para el hallazgo de nuevos parientes silvestres de *V. planifolia*.

Conclusiones

Es la primera vez que se evalúan esquejes verdes de *V. planifolia*, con y sin daños fitopatológicos y daños mecánicos, para algunas variables de crecimiento en invernadero, de individuos silvestres en Costa Rica, como parte de una estrategia para aclimatizar y conservar este material considerado como raro, único y valioso, y cuantificar su potencial morfológico fuera de condiciones naturales.

Aunque no se puede aducir que existe una correlación entre la sobrevivencia y las mejores respuestas organogénicas con la calidad fitosanitaria, el daño mecánico y la vigorosidad, los resultados de selección cualitativa indicaron la necesidad de validar este procedimiento como mecanismo inicial para el manejo de individuos silvestres. En particular, si se toma en consideración que el cultivo de vainilla mediante semilla sexual no es viable en el corto plazo, por lo cual, todo el manejo debe de realizarse de forma vegetativa.

Agradecimientos

Al programa de Maestría Académica en Manejo de Recursos Naturales con énfasis en Biodiversidad de la Universidad Estatal a Distancia de Costa Rica que orientó el diseño, la realización y conclusión de la tesis de posgrado, parte de la cual, dio origen a esta nota técnica.

Literatura citada

- Arango, D.A., y F. Moreno. 2011. Desarrollo inicial de la vainilla (*Vanilla planifolia* Andrews, Orchidaceae) bajo diferentes usos de la tierra y condiciones climáticas en Colombia. En: I. Lombardi et al., editores, Congreso Forestal Latinoamericano. Cámara Nacional Forestal, Lima, PER. p. 1-17.
- Azofeifa-Bolaños, J.B., L.R. Gigant, M. Nicolás-García, M. Pignal, F.B. Tavares-González, E. Hágsater, G.A. Salazar-Chávez, D. Reyes-López, F.L. Archila-Morales, J.A. García-García, D. da-Silva, A. Allibert, F. Solano-Campos, G.C. Rodríguez-Jimenes, A. Paniagua-Vásquez, P. Besse, A. Pérez-Silva, and M. Grisoni. 2017. A new vanilla species from Costa Rica closely related to *V. planifolia* (Orchidaceae). *Eur. J. Taxon.* 284:1-26. doi:10.5852/ejt.2017.284
- Azofeifa-Bolaños, J.B., A. Paniagua-Vásquez, y J.A. García-García. 2014. Importancia y desafíos de la conservación de *Vanilla* spp. (Orchidaceae) en Costa Rica. *Agron. Mesoam.* 25:189-202. doi:10.15517/am.v25i1.14220
- Baltazar-Nieto, P. 2010. Caracteres morfológicos de vainilla utilizados por el agricultor en la selección del material reproductivo en cuatro municipios del Totonacapan, México. Tesis M.Sc., Colegio de Postgraduados, Puebla, MEX.
- Bory, S., M. Grisoni, M.F. Duval, and P. Besse. 2008a. Biodiversity and preservation of vanilla: present state of knowledge. *Genet. Resour. Crop Evol.* 55:551-571. doi:10.1007/s10722-007-9260-3
- Bory, S., P. Lubinsky, A.M. Risterucci, J.L. Noyer, M. Grisoni, M.F. Duval, and P. Besse. 2008b. Patterns of introduction and diversification of *Vanilla planifolia* (Orchidaceae) in Reunion Island (Indian Ocean). *Am. J. Bot.* 95:805-815. doi:10.3732/ajb.2007332
- Divakaran, M., K.N. Babu, and K.V. Peter. 2006. Conservation of *Vanilla* species, *in vitro*. *Sci. Hort.* 110:175-180. doi:10.1016/j.scienta.2006.07.003
- Duval, M.F., S. Bory, S. Andrzejewski, M. Grisoni, P. Besse, S. Causse, C. Charon, M. Dron, E. Odoux, et M. Wong. 2006. Diversité génétique des vanilliers dans leurs zones de dispersion secondaire. *Les Actes du BRG* 6:181-196.

- Flanagan, N.S., and A.T. Mosquera-Espinosa. 2016. An integrated strategy for the conservation and sustainable use of native *Vanilla* species in Colombia. *Lankesteriana* 16:201-218. doi:10.15517/lank.v16i2.26007
- Havkin-Frenkel, D., and F.C. Belanger. 2007. Application of metabolic engineering to vanillin biosynthetic pathways in *Vanilla planifolia*. In: R. Verpoorte et al., editors, Applications of plant metabolic engineering. Springer, HOL. p. 175-196.
- Hernández-Ruíz, J., B.E. Herrera-Cabrera, A. Delgado-Alvarado, V.M. Salazar-Rojas, Á. Bustamante-González, J.E. Campos-Contreras, y J. Ramírez-Juárez. 2016. Distribución potencial y características geográficas de poblaciones silvestres de *Vanilla planifolia* (Orchidaceae) en Oaxaca, México. *Rev. Biol. Trop.* 64:235-246. doi:10.15517/rbt.v64i1.17854
- Karremans, A.P., and C. Lehmann. 2018. A highly threatened new species of *Vanilla* from Costa Rica. *Lindleyana* 87:304-307.
- Lubinsky, P., S. Bory, J. Hernández-Hernández, S.C. Kim, and A. Gómez-Pompa. 2008. Origins and dispersal of cultivated vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. [Orchidaceae]). *Econ. Bot.* 62(2):127-138. doi:10.1007/s12231-008-9014-y
- Minoo, D., V.N. Jayakumar, S.S. Veena, J. Vimala, A. Basha, K.V. Saji, K. Nirmal, and K.V. Peter. 2008. Genetic variations and interrelationships in *Vanilla planifolia* and few related species as expressed by RAPD polymorphism. *Genet. Resour. Crop Evol.* 55:459-470. doi:10.1007/s10722-007-9252-3
- Rivera-Coto, G. 2017. Conceptos introductorios a la fitopatología. 2a ed. EUNED, San José, CRC.
- SAS Institute. 1994. The SAS system for Windows. Release 9.4. SAS Inst., Cary, NC, USA.
- Soto-Arenas, M.A. 1999. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. J101. Filogeografía y recursos genéticos de las vainillas de México. Instituto Chinoín AC, México D.F., MEX.
- Soto-Arenas, M.A., y A.R. Solano-Gómez. 2007. *Vanilla planifolia*. En: M.A. Soto-Arenas, editor, Fichas de especies del proyecto W029: Información actualizada sobre especies de orquídeas del PROY-NOM-059-ECOL- 2000. Bases de datos SNIB-CONABIO. Instituto Chinoín A.C., México, D.F., MEX. p. 1-18. <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/ise/fichasnom/Vanillaplanifolia00.pdf> (consultado 23 junio 2018).
- Soto, M. 2006. La vainilla: retos y perspectivas de su cultivo. *Biodiversitas* 66:1-9.
- Vega, M., M. Hernández, B.E. Herrera-Cabrera, and A. Wegier. 2017. *Vanilla planifolia*. The IUCN red list of threatened species 2017:e.T103090930A103090933. doi:10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T103090930A103090933.en (consultado 23 jun. 2018).
- Verma, P.C., D. Chakrabarty, S.N. Jena, D.K. Mishra, P.K. Singh, S.V. Sawant, and R. Tuli. 2009. The extent of genetic diversity among *Vanilla* species: Comparative results for RAPD and ISSR. *Ind. Crops Prod.* 29:581-589. doi:10.1016/j.indcrop.2008.11.006