

Caracterización morfoagronómica y evaluación del contenido proteínico en dos genotipos de *Clitoria ternatea* L. cultivados en un sistema de espalderas

Morphoagronomic characterization and protein content evaluation in two genotypes of *Clitoria ternatea* L. cultivated on a trellis system

Hallely Suárez¹, W. Mercado¹, Maribel Ramírez¹, Belkys Bracho², J. Rivero³
y D. E. García^{4,5}

¹Departamento de Botánica, ²Departamento de Estadística, ³Departamento de Zootecnia, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia (LUZ), Apdo. 15205, ZU4005, Venezuela

⁴FMF-Freiburg Materials Research Center, D-79104, Freiburg i. Br., Germany

⁵Institute of Forest Utilization and Work Science, D-79085, Freiburg i. Br., Germany

E-mail: hsuarez@fa.luz.edu.ve, mcramire@fa.luz.edu.ve

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar las características morfoagronómicas y el porcentaje de proteína de dos genotipos: azul (GA) y blanco (GB), de la leguminosa forrajera zapatico de la reina (*Clitoria ternatea*), cultivados en un sistema de espalderas, en Venezuela. Se evaluaron 38 características morfológicas y de crecimiento, con un diseño experimental completamente aleatorizado. A los 15 días de edad las plantas mostraron igual longitud del tallo principal, número de nudos (Nn), número de hojas en el tallo principal (NHTP) y número de hojas en la planta, indicadores que se incrementaron con la edad. El Nn tuvo un comportamiento similar al NHTP y la fase vegetativa duró 30 días, cuando se desarrollaron las ramas laterales de primer orden, y a los 45 días lo hicieron las ramas de segundo orden. La emisión de hojas pentafolioladas indicó el inicio de la floración. Los dos genotipos presentaron un comportamiento semejante en las fases de desarrollo: vegetativa, floración y producción. El GA se caracterizó por su mayor vigor, alta capacidad de ramificación y valores máximos en el ancho de la hoja y la longitud de la flor, y el GB por su alta producción de legumbres y semillas; estas características constituyen importantes indicadores morfológicos en ambos genotipos. El GA presentó un mayor contenido de PC (32,05%) a los 90 días de edad. Se recomienda emplear esta leguminosa herbácea como fuente proteínica a corto plazo, por su rápido crecimiento y sus altos contenidos de materia seca (89,48-90,35%) y PC (32,05-29,50%); así como realizar otros estudios relacionados con la fitotecnia y manejo de este cultivo.

Palabras clave: Características agronómicas, *Clitoria ternatea*, contenido proteínico

Abstract

The objective of this work was to evaluate the morphoagronomic characteristics and the protein percentage of two genotypes: blue (BG) and white (WG), of the forage legume butterfly pea (*Clitoria ternatea*), cultivated on a trellis system, in Venezuela. Thirty-eight morphological and growth characteristics were evaluated, with a completely randomized experimental design. At 15 days of age the plants showed equal main stem length, number of nodes (Nn), number of leaves in the main stem (NLMS) and number of leaves in the plant, indicators which increased with age. Nn had a similar performance as NLMS and the vegetative stage lasted 30 days, when the first-order lateral branches developed and after 45 days the second-order branches developed. Pentafoliate leaf shooting indicated the onset of flowering. Both genotypes showed a similar performance in the development stages: vegetative, flowering and production. BG showed higher vigor, high branching capacity and maximum values in leaf width and flower length, and WG had high pod and seed production; these characteristics constitute important morphological indicators in both genotypes. BG showed a higher content of CP (32,05%) at 90 days of age. To use this herbaceous legume as short-term protein source, because of its fast growth and high dry matter (89,48-90,35%) and CP (32,05-29,50%) contents is recommended; as well as to conduct other studies related to the management of this crop.

Key words: Agronomic characteristics, *Clitoria ternatea*, protein content

Introducción

La ganadería bovina constituye uno de los rubros de gran importancia económico-social en Venezuela, debido a que genera ingresos, empleos y alimentos para la población. La mayor parte de la producción de leche y carne del país proviene de vacas de doble propósito, alimentadas con forraje y suplementos balanceados (concentrados), que generalmente se elaboran con materias primas importadas y de alto costo. La cantidad de suplemento que se debe emplear depende de la disponibilidad y la calidad del forraje fresco, lo cual varía con la distribución de las lluvias (Villalobos y Tobías, 2008).

Las zonas tropicales poseen la mayor diversidad genética vegetal en el mundo; sin embargo, los modelos de alimentación animal se han basado, principalmente, en el uso de pocas especies vegetales (Rosales, 1999). De ahí que el valor alimenticio de las especies se haya identificado solo para un número limitado, por lo que resulta primordial la evaluación de los recursos fitogenéticos locales promisorios. Uno de estos es la leguminosa *Clitoria ternatea* L. (zapatico de la reina), que sobresale por su excelente adaptación a las condiciones tropicales y subtropicales (Polo, 2004; Villanueva, Bonilla, Rubio y Bustamante, 2004; López *et al.*, 2011), buena producción de forraje, enorme potencial para mejorar la productividad animal a menor costo (González y Chow, 2008) y alto contenido de proteína cruda (Ramos *et al.*, 2008). La incorporación de esta leguminosa en los sistemas de producción agrícola y pecuaria es una excelente alternativa, que contribuiría a ampliar la sostenibilidad (Rojas, Olivares, Jiménez y Hernández, 2005; Faría y González, 2008; Hurtado, Vega, Ramos y Álvarez, 2008; Bugarín *et al.*, 2009; Morris, 2009).

La caracterización morfológica y la evaluación agronómica de los recursos fitogenéticos son actividades importantes, ya que permiten describir y diferenciar los atributos cualitativos y cuantitativos de varios individuos de una especie, basado en su utilidad, así como generar conocimiento técnico básico para el manejo como cultivo en determinadas zonas

Introduction

Cattle production is one of the sectors of high socioeconomic importance in Venezuela, because it generates income, jobs and food for the population. Most milk and beef production in the country is from double-purpose cows, fed forage and balanced supplements (concentrate feeds), which are generally elaborated with imported and highly costly raw materials. The quantity of supplement to be used depends on the availability and quality of fresh forage, which varies with rainfall distribution (Villalobos and Tobías, 2008).

Tropical zones have the highest genetic diversity worldwide; however, the animal feeding models have been mainly based on the use of few plant species (Rosales, 1999). Hence the feeding value of the species has been identified for only a limited number, for which the evaluation of promising local plant genetic resources is essential. One of them is the legume *Clitoria ternatea* L. (butterfly pea), which stands out for its excellent adaptation to tropical and subtropical conditions (Polo, 2004; Villanueva, Bonilla, Rubio and Bustamante, 2004; López *et al.*, 2011), good forage production, huge potential for improving animal productivity with lower cost (González and Chow, 2008) and high crude protein content (Ramos *et al.*, 2008). The incorporation of this legume in agricultural and livestock production systems is an excellent choice, which would contribute to increase sustainability (Rojas, Olivares, Jiménez and Hernández, 2005; Faría and González, 2008; Hurtado, Vega, Ramos and Álvarez, 2008; Bugarín *et al.*, 2009; Morris, 2009).

The morphological characterization and agronomic evaluation of plant genetic resources are important activities, because they allow describing and differentiating qualitative and quantitative attributes of several individuals of one species, based on their usefulness, as well as generating basic technical knowledge for management as crop in certain agroecological zones (Ramos *et al.*, 2008). The use of butterfly pea in Venezuelan production systems is scarce, due to the little seed availability and the lack of technical knowledge about its cultivation and

agroecológicas (Ramos *et al.*, 2008). El uso del zapatico de la reina en los sistemas de producción en Venezuela es escaso, debido a la poca disponibilidad de semilla y a la falta de conocimiento técnico sobre su cultivo y utilización. Por tales motivos se realizó este trabajo, con el objetivo de evaluar las características morfoagronómicas y el contenido proteínico de dos genotipos cultivados en un sistema de espalderas, en condiciones de bosque tropical muy seco.

Materiales y Métodos

Ubicación de la investigación. El experimento se realizó en el vivero universitario de la Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia (LUZ), estado Zulia, Venezuela, el cual se ubica a 10°41'12" de latitud Norte y 71°38'05" de longitud Oeste, a una altitud de 25 msnm; está enmarcado en una zona ecológica de bosque tropical muy seco, con precipitaciones de 500 a 600 mm/año y promedio anual de temperatura de 29°C, humedad relativa de 79% y evapotranspiración de 2 500 mm (Sánchez y Ramírez, 2006). Las condiciones ambientales durante el ensayo se indican en la tabla 1.

Material vegetal y siembra de las semillas. El material vegetal se obtuvo de semillas de zapatico de la reina, genotipos azul y blanco, que permanecieron almacenadas a 10°C durante un año en el laboratorio de propagación de plantas, de la Facultad de Agronomía-LUZ. Para la obtención de las plántulas, las semillas se sembraron en bolsas de polietileno negro de 1 kg de capacidad, las cuales contenían sustrato de arena y materia orgánica (estiércol de bovino lavado) en proporción de 2:1, previamente tratado con 5 mL de fungicida Ridomil® (3 g.L⁻¹) por bolsa para desinfectar el sustrato. Durante esta fase se

utilización. For such reasons this work was conducted, in order to evaluate the morphoagronomic characteristics and protein content of two genotypes cultivated on a trellis system, under highly dry tropical forest conditions.

Materials and Methods

Study location. The trial was conducted at the university nursery of the School of Agronomy, University of Zulia (LUZ), Zulia state, Venezuela, which is located at 10°41'12" latitude North and 71°38'05" longitude West, at an altitude of 25 masl; it is framed in an ecological zone of very dry tropical forest, with rainfall of 500-600 mm/year and annual average temperature of 29°C, relative humidity of 79% and evapotranspiration of 2 500 mm (Sánchez and Ramírez, 2006). The environmental conditions during the essay are indicated in table 1.

Plant material and seeding. The plant material was obtained from butterfly pea seeds, blue and white genotypes, which remained stored at 10°C during a year at the laboratory of plant propagation, of the School of Agronomy-LUZ. For obtaining the seedlings, the seeds were planted in black polyethylene bags of 1 kg capacity, which contained a substratum of sand and organic matter (leached cattle manure) in a 2:1 ratio, previously treated with 5 mL of Ridomil® fungicide (3 g.L⁻¹) per bag to disinfect the substratum. During this stage irrigation took place every two days; but seven days before the transplant the field was not irrigated, in order to guarantee seedling hardening. After 30 days they were transplanted to the field on a fine loamy Typic haplargids soil, of low natural fertility, low moisture retention and pH which varies from 6,26 to 4,95 (Larreal, Jiménez, Wilhelmus and Noguera, 2004).

Tabla 1. Valores de temperatura y precipitación en la zona durante el período experimental.
Table 1. Temperature and rainfall values in the zone during the experimental period.

Indicador	Edad de la planta (días)					
	15	30	45	60	75	90
Temperatura mínima (°C)	25,99	26,07	25,07	24,52	25,37	25,35
Temperatura máxima (°C)	35,78	34,54	34,81	32,75	34,35	38,62
Temperatura media (°C)	29,96	29,77	29,15	28,13	29,37	29,35
Precipitación (mm/día)	4,013	2,133	4,11	6,03	10,44	1,34

efectuó un riego cada dos días; pero siete días antes del trasplante al campo no se regó, con el fin de garantizar el endurecimiento de las plántulas. Después de los 30 días estas se trasplantaron al campo en un suelo Typic haplargids francosa fina, de baja fertilidad natural, baja retención de humedad y con un pH que varía de 6,26 a 4,95 (Larreal, Jiménez, Wilhelmus y Noguera, 2004).

El establecimiento de las plántulas en el campo se realizó en un sistema de conducción de espaldera vertical, de trece hileras con 5 m de largo y 1 m de alto. En cada hilera se colocaron dos líneas de alambre calibre 18, distanciadas a 40 y 80 cm del suelo. Como soportes se usaron tutores de madera separados a 2,5 m. En las hileras se hicieron hoyos donde se colocó 1 kg de arena y estiércol de bovino en las mismas proporciones; posteriormente se sembraron diez plántulas distanciadas a 0,50 m, para un total de 65 de cada genotipo. Después del trasplante se realizaron las siguientes prácticas: riego y control de plantas arvenses de forma manual cada tres días, inspecciones sanitarias quincenales y abonado con estiércol de bovino (1 kg por planta) una vez al mes. También se colocó entre las hileras una cobertura de material vegetal seco para disminuir la incidencia de plantas arvenses, y proteger y mantener la humedad del suelo.

Variables utilizadas. A los 15 días se realizaron las evaluaciones morfológicas de las plantas; para ello se seleccionaron al azar 12 de cada genotipo, sin considerar aquellas que se encontraban en el extremo de cada hilera. Se evaluaron las siguientes variables cuantitativas y cualitativas, incluidas algunas de las indicadas en los descriptores del IPGRI (1984): longitud del tallo principal (LTP), longitud de la rama de primer orden (LR1), longitud de la rama de segundo orden (LR2), longitud y ancho de la hoja trifoliolada (LH3F, AH3F), longitud y ancho de la hoja pentafofoliada (LH5F, AH5F), longitud y ancho de la hoja heptafofoliada (LH7F, AH7F) –de las hojas completamente desarrolladas o expandidas–, longitud y ancho de la legumbre (LL, AL), longitud y ancho de la semilla (AS, LS), longitud de la guía (LG) y longitud del internodio

Seedling establishment in the field was carried out on a vertical trellis system, of thirteen rows, 5 m long and 1 m tall. In each row two wire lines, caliber 18, were placed, at a distance of 40 and 80 cm from the soil. Wood stakes separated at 2,5 m were used as supports. Holes were made in the rows, in which 1 kg of sand and cattle manure was placed in the same proportions; afterwards, ten seedlings were planted at a distance of 0,50 m, for a total of 65 seedlings of each genotype. After the transplant the following practices took place: irrigation and manual weeding every three days, sanitary inspections every 15 days and fertilization with cattle manure (1 kg per plant) once a month. A cover of dry plant material was also placed between rows in order to decrease weed incidence, and to protect and maintain soil moisture.

Variables used. Fifteen days after transplant morphological evaluations were conducted in the plants; for such purpose 12 plants of each genotype were randomly selected, without considering those at the end of each row. The following quantitative and qualitative variables were evaluated, including some of those indicated by IPGRI descriptors (1984): main stem length (MSL), length of first-order branch (LB1), length of second-order branch (LB2), length and width of trifoliolate leaf (L3FL, W3FL), length and width of pentafofoliate leaf (L5FL, W5FL), length and width of the heptafofoliate leaf (L7FL, W7FL) –of the fully developed or expanded leaves–, pod length and width (PL, PW), seed length and width (SL, SW), leading shoot length (LSL) and length of the internode previous to the leading shoot (IPLS). The length was measured from the proximal part to the apical portion of the organ, and for width (W3FL, W5FL, W7FL and PW) the equatorial plane of the organ was considered and five were measured per plant. In MSL, LB1 and LB2 a wool piece was placed near the apex, indicating the last measurement. All these variables were expressed in centimeters.

The following variables were also evaluated: number of leaves in the main stem (NLMS), number of leaves in the plant (NLP), number of leaves in first-order branch (NLB1) and in

antes de la guía (LIG). La longitud se midió desde la parte proximal hasta la porción apical del órgano, y para el ancho (AH3F, AH5F, AH7F y AL) se consideró el plano ecuatorial de este y se midieron cinco por cada planta. En LTP, LR1 y LR2 se colocó una lana cerca del ápice, que indicaba la última medición. Todas estas variables se expresaron en centímetros.

También se evaluó el número de hojas en el tallo principal (NHTP), el número de hojas en la planta (NHP), el número de hojas en la rama de primer orden (NHR1) y en la del segundo orden (NHR2), el número de nudos en el tallo principal (Nn), el número de nudos hasta la primera flor (NNPF), el número de nudos hasta la primera hoja con cinco y siete folíolos (NNH5F, NNH7F), el número de nudos antes de la presencia de la guía (NNAG), el número de nudos en la guía (NNG), así como el número de botones y flores por planta (NB, NF), mediante el conteo de cada uno de los órganos. El número de legumbres por planta (NLP) y el número de semillas por legumbre (NSL) se contaron a los 90 días después de la siembra. El diámetro del tallo principal (DTP), y el diámetro y la longitud de la flor (DF, LF) se midieron con un calibrador milimétrico. La LF se determinó a través del diámetro polar; el DTP y el DF, mediante el diámetro ecuatorial del órgano. El porcentaje de plantas con flores (PPF) y de botones florales (PBF) se determinó a través de la relación del número de plantas con flores y de botones florales a los 30 días de edad entre el número total de plantas, respectivamente. El color de la flor (CF) se estableció de acuerdo con la tabla Pantone® (2004). El peso de mil semillas (PMS) se evaluó a los 90 días de edad de la planta, para ello se cosecharon mil semillas de legumbres secas y después se pesaron. La determinación del porcentaje de materia seca (MS) y de proteína cruda (PC) se realizó a los 90 días de edad, según la AOAC (1995), en seis plantas.

Diseño experimental y análisis estadístico. El diseño fue completamente aleatorizado; se tomó como unidad experimental una planta y doce repeticiones por genotipo, valor superior al empleado por Romero (2012). En el caso de las

second-order branch (NLB2), number of nodes in the main stem (Nn), number of nodes to the first flower (NNFF), number of nodes to the first leaf with five and seven folioles (NNL5F, NNL7F), number of nodes before the presence of the leading shoot (NNBLS), number of nodes in the leading shoots (NNLS) as well as the number of buds and flowers per plant (NB, NF), by counting each of the organs. The number of pods per plant (NPP) and the number of seeds per pod (NSP) were counted 90 days after planting. The main stem diameter (MSD), and the flower diameter and length (FD, FL) were measured with a millimetric calibrator. The FL was determined through polar diameter; MSD and FD were determined through the equatorial diameter of the organ.

The percentage of plants with flowers (PPF) and flower buds (FB) was determined through the relation of the number of plants with flowers and of floral buds at 30 days of age between the total number of plants, respectively. The flower color (FC) was established according to the Pantone® table (2004). The weight of a thousand seeds (WTS) was evaluated 90 days after seeding, for such purpose a thousand seeds were harvested from dry pods and they were weighed. The percentage of dry matter (DM) and crude protein (CP) was determined at 90 days of age, according to the AOAC (1995), in six plants.

Experimental design and statistical analysis. The design was completely randomized; a plant was taken as experimental unit and there were twelve repetitions per genotype, value higher than the one used by Romero (2012). In the case of the variables MSL, MSD, NNMS, NLMS, NLP, NBP, NFP, LB1, LB2, NLB1 and NLB2 an analysis of measures repeated in time was applied, considering its linear and quadratic trend; the studied factor was genotype, and first and second-order polynomial models were used. In general, the model with best adjustment to the data was selected according to the Bayesian information criterion (BIC), the Akaike information criterion (AIC) – corrected for small samples (AICC)– and the REMLlog likelihood criterion (REMLlogL),

variables LTP, DTP, NNTP, NHTP, NHP, NBP, NFP, LR1, LR2, NHR1 y NHR2 se aplicó un análisis de medidas repetidas en el tiempo, considerando la tendencia lineal y cuadrática de este; el factor estudiado fue el genotipo, y se utilizaron modelos polinómicos de primer y segundo orden. En general, el modelo con mejor ajuste a los datos se seleccionó según el criterio bayesiano de Schwarz (BIC), el de Akaike (AIC) –corregido para muestras pequeñas (AICC)– y el de máxima verosimilitud restringida (REMLlogL), generados por el procedimiento MIXED del SAS® (SAS, 2010). Para explicar el comportamiento de LH3F, LH5F, LH7F, AH3F, AH5F, AH7F, NNPF, NNH5F, NNH7F, DF, LF, NLP, LL, AL, AS, LS, NSL, LNAG, NNAG, LG, LIG, NNG, PMS, PC y MS se realizó un análisis de varianza mediante el procedimiento GLM del programa Statistical Analysis System. Cuando se detectaron diferencias significativas, se utilizó la prueba de Tukey para la comparación de medias (SAS, 2010).

Resultados y Discusión

La LTP (fig. 1A) fue similar en ambos genotipos a los 15 días, y en el momento del trasplante el genotipo blanco presentó la mayor LTP, hasta el final de la fase de evaluación. Los DTP en los dos genotipos fueron semejantes a los 45 días de edad de la planta; sin embargo, a partir del día 60 se incrementó el diámetro hasta los 75 días, especialmente en el genotipo azul (fig. 1B). A medida que los genotipos avanzaron en edad aumentó el crecimiento del tallo, comportamiento indicado también por Piña y Bautista (2006). El NHTP fue similar en los genotipos durante los intervalos de tiempo evaluados (fig. 1C). Esta variable tuvo un crecimiento rápido hasta los 45 días, etapa en la que las plantas mostraron su mayor potencial, con los valores más altos en el genotipo azul. A partir de este momento los incrementos fueron menores y ello pudo estar asociado a que durante este tiempo la planta presentó brotación de yemas laterales y formación de nuevas ramas, lo que produjo variaciones en la distribución de la biomasa entre sus diferentes órganos. En cuanto al Nn (fig. 1D), se detectó

generated by the procedure MIXED from SAS® (SAS, 2010). To explain the performance of L3FL, L5FL, L7FL, W3FL, W5FL, W7FL, NNFF, NN, NN5FL, NN7FL, FD, FL, NPP, PL, PW, SW, SL, NSP, LNAG, NNBL, LSL, IPLS, NNLS, DMP, CP and DM a variance analysis was made through the GLM procedure from the Statistical Analysis System program. When significant differences were found, Tukey's test was used for mean comparison (SAS, 2010).

Results and Discussion

The MSL (fig. 1A) was similar in both genotypes after 15 days, and at the moment of transplant the white genotype showed the highest MSL, until the end of the evaluation stage. The MSDs in the two genotypes were similar at 45 days of age of the plant; nevertheless, since day 60 the diameter increased until day 75, especially in the blue genotype (fig. 1B). As the genotypes advanced in age stem growth increased, performance also indicated by Piña and Bautista (2006). The NLMS was similar in the genotypes during the evaluated time intervals (fig. 1C). This variable had a fast growth until day 45, stage in which the plants showed their highest potential, with the highest values in the blue genotype. Since that moment the increases were lower and this could be associated to the fact that during this time the plant showed emergence of lateral buds and formation of new branches, which produced variations in biomass distribution among its different organs. Regarding Nn (fig. 1D), a similar performance as that of NLMS was detected, although the Nn was higher in the white genotype after 30 days of age and similar to the number of leaves, because one leaf per node was always observed (figs. 1C-D).

In the NLP, during the first 30 days, the plants were found to show a slow growth phase (fig. 2A), associated to the little existence of meristematic centers or spots (Raven, Evert and Eichhorn, 2005; Barceló, Rodrigo, Sabater and Sánchez, 2005; Taiz and Zeiger, 2006). Afterwards, they started the formation of lateral branches, which increased NLP, leaf area and aerial part, in which metabolic processes occur

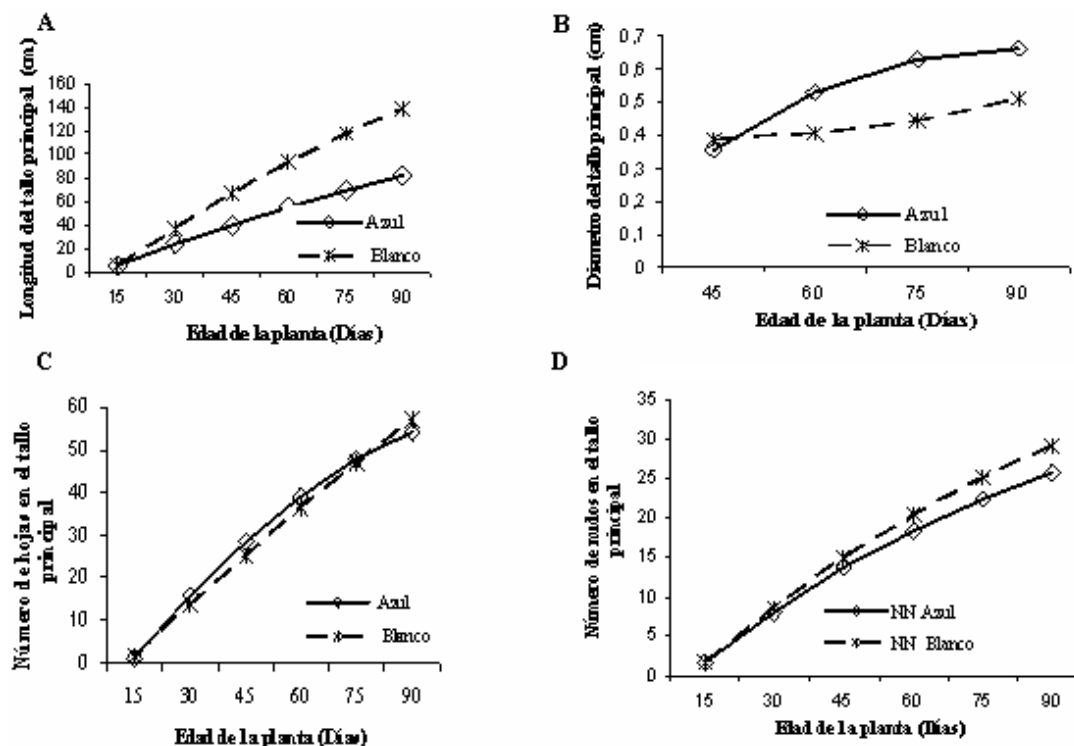


Fig. 1. Longitud del tallo principal (A), diámetro del tallo principal (B), número de hojas en el tallo principal (C) y número de nudos en el tallo principal (D), en dos genotipos de zapatico de la reina.

Fig. 1. Main stem length (A), main stem diameter (B), number of leaves on the main stem (C) and number of nodes on the main stem (D), in two genotypes of butterfly pea.

un comportamiento semejante al del NHTP, aunque el Nn fue mayor en el genotipo blanco después de los 30 días de edad y similar al número de hojas, ya que siempre se observó una hoja por nudo (figs. 1C-D).

En el NHP se encontró que, durante los primeros 30 días, las plantas mostraron una fase de crecimiento lenta (fig. 2A), asociada a la poca existencia de centros o puntos meristemáticos (Raven, Evert y Eichhorn, 2005; Barceló, Rodrigo, Sabater y Sánchez, 2005; Taiz y Zeiger, 2006). Posteriormente estas iniciaron la formación de ramas laterales, lo que aumentó el NHP, el área foliar y la parte aérea, en la cual los procesos metabólicos ocurren a una mayor velocidad y los carbohidratos son destinados a la formación de las hojas y otros órganos vegetativos (Medina *et al.*, 1996; Azcón y Talón, 2008). El número de hojas fue mayor en el

at higher rate and carbohydrates are destined to the formation of leaves and other vegetative organs (Medina *et al.*, 1996; Azcón and Talón, 2008). The number of leaves was higher in the blue genotype due to its high branching capacity.

The vegetative stage lasted approximately 30 days and 88,46% of the blue plants and 53,84% of the white ones were found to show flower buds; 53,84%, blue flowers and 15,38%, white flowers. These results contrasted with the ones reported by Villanueva *et al.* (2004), who indicated that flowering started at 45 days of age. The white genotype surpassed the blue one regarding the number of flower buds and number of flowers per plant (figs. 2B and 2C). The butterfly-pea genotypes showed early flowering (30 days); this was associated to the genotype-environment mechanism, because during the initial nursery stage the plants were

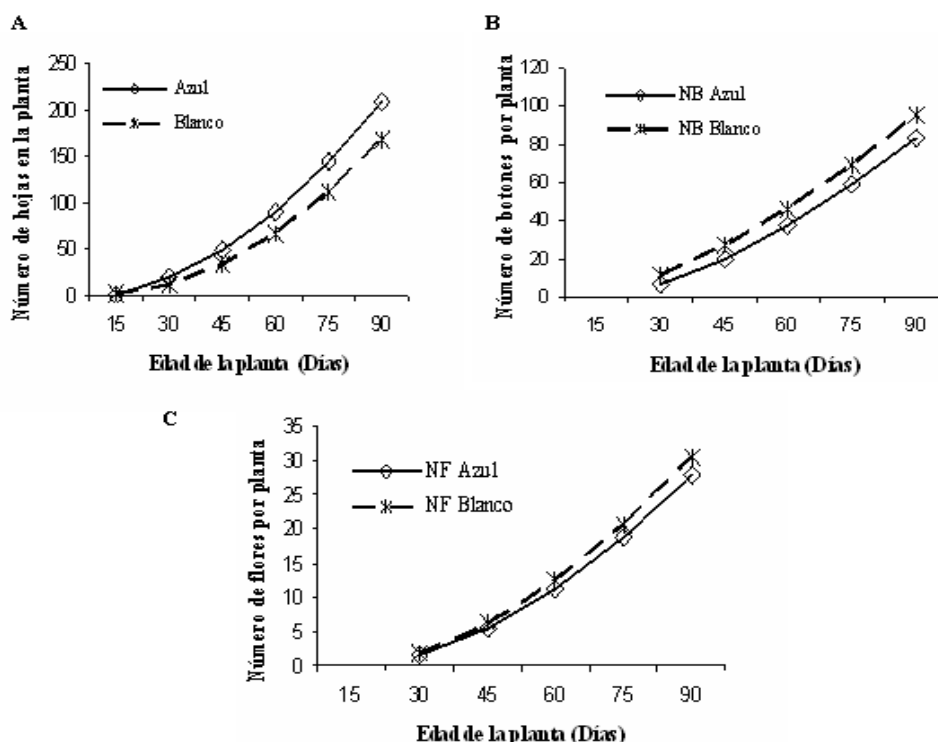


Fig. 2. Número de hojas (A), número de botones florales (B) y número de flores (C) por planta en dos genotipos de zapatico de la reina.

Fig. 2. Number of leaves (A), number of flower buds (B) and number of flowers (C) per plant in the two butterfly pea genotypes..

genotipo azul debido a su alta capacidad de ramificación.

La fase vegetativa duró aproximadamente 30 días y se encontró que el 88,46% de las plantas azules y el 53,84% de las blancas presentaron botones florales; el 53,84%, flores azules y el 15,38%, flores blancas. Estos resultados contrastaron con los informados por Villanueva *et al.* (2004), quienes indicaron que la floración se inició a los 45 días. El genotipo blanco superó al azul en cuanto al número de botones florales y el número de flores por planta (figs. 2B y 2C). Los genotipos de zapatico de la reina mostraron una floración temprana (30 días); ello se asoció al mecanismo genotipo-ambiente, ya que durante la etapa inicial de vivero las plantas se regaron tres veces por semana y después se sometieron a un periodo de endurecimiento sin riego (siete días), antes del trasplante al campo; adicionalmente, en ese periodo hubo pocas pre-

irrigated three times per week and they were then subject to a hardening period without irrigation (seven days), after transplant to the field; in addition, in this period there was little rainfall (table 1), conditions which could have induced or anticipated flowering. Medel (2008) indicated that a short period of water stress before flowering onset increases flowering. Thus, the opposition between the vegetative and reproductive periods causes vegetative growth, produced by water stress, to favor the expansion of the flower bud and the distribution of absorption for inflorescence development. In citrus fruit trees the practice of drought periods is frequently used to induce flowering, in order to plan fruit production and harvest in the year (Cruz, Siquiera, Salomao and Cecon, 2006; Rodríguez *et al.*, 2007).

The development of first-order branches in both genotypes started at 30 days of age of the

cipitaciones (tabla 1), condiciones que pudieron haber inducido o adelantado la floración. Medel (2008) indicó que un periodo corto de estrés de agua antes de la iniciación floral incrementa la floración. Por tanto, la oposición que existe entre los periodos vegetativo y reproductivo provoca que el crecimiento vegetativo, producido por el estrés de humedad, pueda favorecer la expansión del botón floral y la distribución de absorción para el desarrollo de la inflorescencia. En los cítricos es frecuente emplear la práctica de periodos de sequía para inducir la floración, con la finalidad de planificar la producción y la cosecha de frutos en el año (Cruz, Siquiera, Salomao y Cecon, 2006; Rodríguez *et al.*, 2007).

El desarrollo de las ramas de primer orden en ambos genotipos se inició a los 30 días de edad de la planta, y el de las ramas de segundo orden, a los 45 (fig. 3A). Ambos tipos de rama mostraron un incremento en la longitud hasta el final de la evaluación. En los dos genotipos el crecimiento de la LR1 fue similar hasta los 90 días; mientras que el de la LR2, hasta los 75 días, momento después del cual el genotipo azul alcanzó la máxima longitud. Al analizar las curvas del NHR1, se observó que ambos genotipos presentaron igual número hacia los 30 días, y después el genotipo

plants, and the development of second-order branches, at 45 days (fig. 3A). Both branch types showed an increase in length until the end of the evaluation. In the two genotypes the growth of LB1 was similar until 90 days of age; while that of LB2, until 75 days, moment after which the blue genotype reached maximum length. When analyzing the curves of the NLB1, both genotypes were observed to show equal number towards 30 days of age, and then the white genotype reached the highest values (fig. 3B). In the blue genotype leaf formation in second-order branches started at 45 days of age, and in the white one, by 75 days of age, with a higher number of leaves in the blue genotype (fig. 3B). With the formation of first- and second-order branches the plant reached higher amount of foliage and higher leaf and photosynthetic organ surface, which allows an increase in the photosynthetic capacity (Portillo, Razza, Marín and Araujo, 2009).

After the analysis of the morphological characteristics of the two genotypes significant differences were detected only in the variables: W3FL, W5FL, W7FL, FL, NNBLS, LSL, NPP, NSP, PL and CP (table 2). Fifteen days after planting, both genotypes showed cotyledonal leaves –which remained until 45 days after

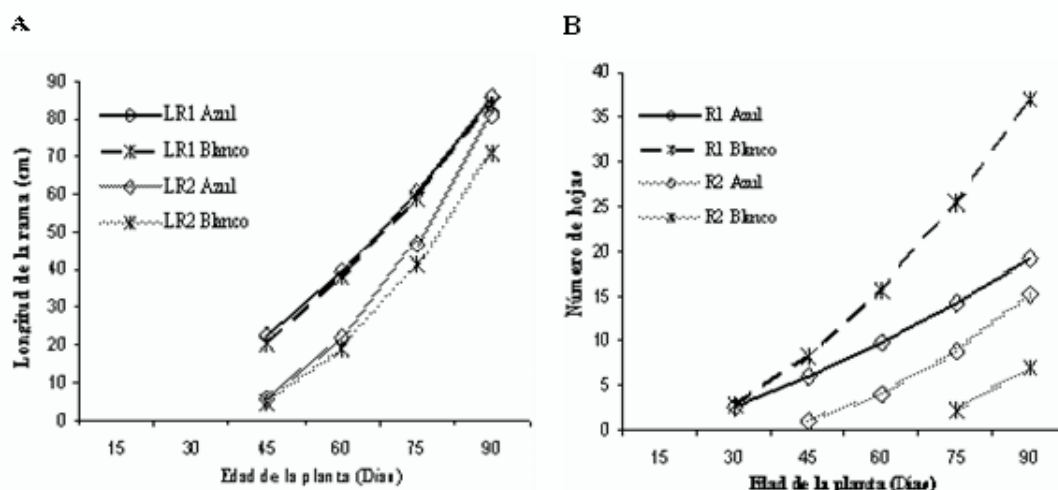


Fig. 3. Longitud de larama de primer orden (LR1) y longitud de larama de segundo orden (LR2) (A), y número de hojas por rama (B) en dos genotipos de zapatico de la reina.

Fig. 3. Length of first-order branch (LB1) and length of second-order branch (LB2) (A), and number of leaves per branch (B) in two butterfly pea genotypes..

blanco obtuvo los máximos valores (fig. 3B). En el genotipo azul la formación de hojas en las ramas de segundo orden se inició a los 45 días, y en el blanco, hacia los 75, con un mayor número de hojas en el azul (fig. 3B). Con la formación de las ramas de primer y de segundo orden la planta alcanzó mayor cantidad de follaje y mayor superficie foliar y de órganos fotosintéticos, lo que permite un aumento en la capacidad fotosintética (Portillo, Razz, Marín y Araujo, 2009).

Después del análisis de las características morfológicas de los dos genotipos solo se detectaron diferencias significativas en las variables: AH3F, AH5F, AH7F, LF, NNAG, LG, NLP, NSL, LL y PC (tabla 2). Transcurridos 15 días de la siembra, ambos genotipos presentaron hojas cotiledonales –que permanecieron hasta los 45 días–, seguidas de dos hojas simples ubicadas en el primer nudo (fig. 4A). Posteriormente se observaron hojas compuestas imparapinnadas, trifolioladas hasta el tercer nudo (fig. 4B). A partir del cuarto nudo se desarrollaron varias hojas pentafofoliadas (fig. 4C), las cuales indicaron el inicio de la floración, y aparecieron los primeros botones florales a los 30 días después de la siembra, que se mantuvieron hasta el final de la evaluación. Las hojas pentafofoliadas representan un indicador de la floración, aspecto valioso que se debe considerar en la planificación del manejo del cultivo, como la fertilización (orgánica) y el riego. El genotipo azul presentó mayores valores de LF (tabla 2). En las flores de este genotipo predominó el color violeta-azulado (Pantone®2746C) en el estandarte y el amarillo-verdoso en la parte central del estandarte (Pantone®386C) y el cáliz (Pantone®373C), y fue más verde en el cáliz; mientras que en el otro genotipo predominó el color blanco (Pantone®649) en el estandarte y el amarillo-verdoso (Pantone®373C) en el cáliz (fig. 4D y 4E). En el genotipo azul se observó que pocas plantas presentaron flores con las alas más desarrolladas (fig. 4F).

A los 45 días las plantas emitieron hojas heptafofoliadas (fig. 4G) que indicaron la emisión de guías largas, las cuales se enredan en el sistema de espalderas; la longitud de la guía

seeding-, followed by two simple leaves located on the first node (fig. 4A). Afterwards, compound, imparipinnate, trifoliolate leaves were observed up to the third node (fig. 4B). From the fourth node several pentafofoliate leaves developed (fig. 4C), which indicated the flowering onset, and the first flower buds appeared 30 days after seeding, which remained until the end of the evaluation. The pentafofoliate leaves represent an indicator of flowering, valuable aspect which should be considered in crop management planning, such as (organic) fertilization and irrigation. The blue genotype showed higher FL values (table 2). In the flowers of this genotype violet-bluish color prevailed (Pantone® 2746C) in the vexillum and yellow-greenish in the central part of the vexillum (Pantone®386C) and the calyx (Pantone®373C), and it was greener in the calyx; while in the other genotype the white color prevailed (Pantone®649) in the vexillum and yellow-greenish (Pantone®373C) in the calyx (fig. 4D and 4E). In the blue genotype few plants were observed to show flowers with more developed wings (fig. 4F).

At 45 days of age the plants produced heptafofoliate leaves (fig. 4G) which indicated the emission of long leading shoots, which tangle in the trellis system; the leading shoot length was higher in the white genotype (table 2). At this moment the presence of green pods was observed (fig. 4H) in both genotypes; branching was also remarkable, more profuse in the blue genotype. Regarding the width of the trifoliolate, pentafofoliate and heptafofoliate leaves, the blue genotype showed the highest values, which suggests that this variable is a possible morphological indicator of high vigor or plant growth. The apex of the folioles in the leaves was classified as acute, of truncated basis, and smooth edge, according to the general leaf classification indicated by Lindorf, Parisca and Rodríguez (1999).

With regards to the production characteristics, at 90 days of age, the blue genotype was found to have around 45 pods per plant and was surpassed by the white one (70). The NSP was

Tabla 2. Características morfológicas en dos genotipos de zapatico de la reina.
Table 2. Morphological characteristics in two butterfly pea genotypes

Variable	GA	GB	ES $\pm$
Características de la hoja			
Ancho de la hoja trifoliolada (cm)	4,93 ^a	4,50 ^b	0,048
Longitud de la hoja trifoliolada (cm)	6,32 ^a	5,61 ^a	0,046
Ancho de la hoja pentafofoliada (cm)	6,97 ^a	6,03 ^b	0,031
Longitud de la hoja pentafofoliada (cm)	8,19 ^a	7,54 ^a	0,041
Ancho de la hoja heptafofoliada (cm)	7,69 ^a	6,43 ^b	0,035
Longitud de la hoja heptafofoliada (cm)	9,03 ^a	8,67 ^a	0,034
Características de la flor a los 45 dds			
Diámetro de la flor (cm)	3,12 ^a	3,05 ^a	0,016
Longitud de la flor (cm)	3,05 ^a	4,52 ^b	0,022
Número de nudos hasta la primera hoja con 5 foliolos, 15 dds	4,17 ^a	4,00 ^a	0,035
Número de nudos hasta la primera hoja con 7 foliolos, 45 dds	10,40 ^a	8,89 ^a	0,068
Número de nudos hasta la primera flor, 30 dds	6,75 ^a	5,82 ^a	0,053
Características de la guía a los 45 dds			
Longitud del nudo antes de la guía (cm)	3,12 ^a	3,22 ^a	0,045
Número de nudos antes de la guía	12,00 ^a	8,75 ^b	0,080
Longitud de la guía (cm)	28,20 ^b	31,70 ^a	0,000
Longitud del internodio en la guía (cm)	7,05 ^a	7,42 ^a	0,055
Número de nudos en la guía (cm)	4,58 ^a	5,00 ^a	0,110
Producción y características de la semilla			
Número de legumbres por planta a los 90 días	45,83 ^b	70,25 ^a	0,576
Número de semillas por legumbre	6,50 ^b	8,92 ^a	0,058
Longitud de la legumbre (cm)	7,84 ^b	9,60 ^a	0,034
Ancho de la legumbre (cm)	0,88 ^a	0,94 ^a	0,004
Ancho de la semilla (cm)	0,48 ^a	0,53 ^a	0,003
Longitud de la semilla (cm)	0,68 ^a	0,66 ^a	0,004
Peso de 1 000 semillas (g)	56,74 ^a	54,58 ^a	0,013
Porcentaje de proteína cruda (%)	32,05 ^a	29,56 ^b	0,061
Porcentaje de materia seca (%)	89,48 ^a	90,35 ^a	0,067

Leyenda:

dds: días después de la siembra

Separación de medias según la prueba de Tukey al 0,05. Medias con letras diferentes en cada variable indican diferencia significativa.

fue mayor en el genotipo blanco (tabla 2). En este momento se observó la presencia de legumbres verdes (fig. 4H) en ambos genotipos; también fue notoria la ramificación, más profusa en el genotipo azul. En cuanto al ancho de la hoja trifoliolada, la pentafofoliada y la heptafofoliada, el genotipo azul mostró los mayores valores, lo cual sugiere que esta variable es un posible indicador morfológico de alto

significantly higher in the white genotype; however, no differences were observed regarding SL and SW. Differences were found between the two genotypes in the CP content, which was higher in the blue one (table 1). The high CP content may be associated to the organic management of the plants during their establishment (fig. 4I-L) and to rainfall distribution in the different crop stages, which could have contributed

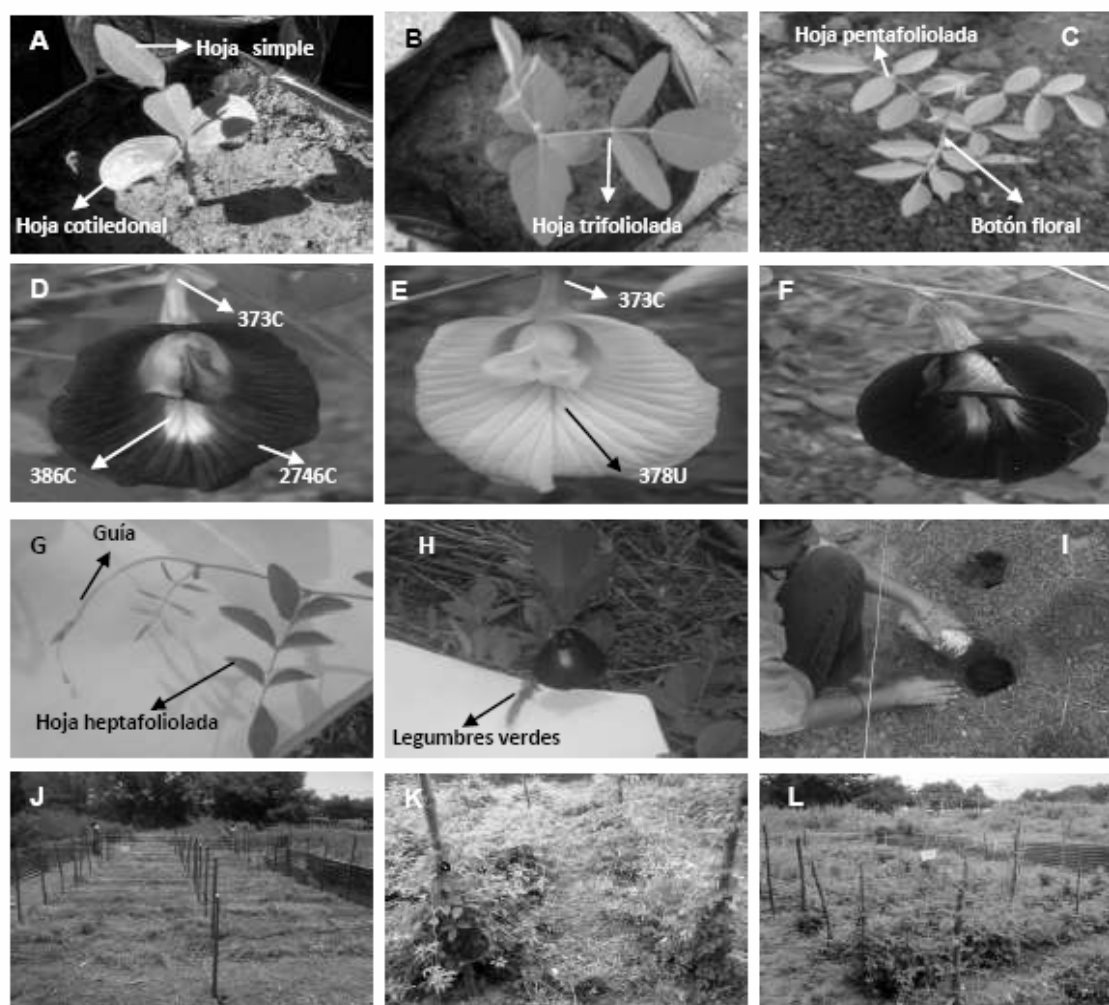


Fig. 4. Características de plantas de zapatico de la reina cultivadas en un sistema de conducción en espalderas. Hoja cotiledonal y hoja simple (A), hoja trifoliolada (B), hoja penta-foliolada y botón floral (C), color de la flor del genotipo azul (D) y del blanco (E), flores en el genotipo azul con las alas más desarrolladas (F), hojas hepta-folioladas y guía (G), legumbres verdes a los 45 días (H), manejo y sistema de conducción del cultivo (I, J, K, L).

Fig. 4. Characteristics of butterfly pea plants cultivated on a trellis system. Cotyledonal leaf and simple leaf (A), trifoliate leaf (B), penta-foliate leaf and flower bud (C) flower color of the blue genotype (D) and of the white one (E), flowers in the blue genotype with more developed wings (F), hepta-foliate leaves and leading shoot (G), green pods at 45 days of age (H), crop management and trellis system (I, J, K, L)

vigor o crecimiento de la planta. El ápice de los foliolos en la hoja se clasificó como agudo, la base truncada y el borde liso, de acuerdo con la clasificación general de las hojas indicada por Lindorf, Parisca y Rodríguez (1999).

Con respecto a las características de producción se encontró, a los 90 días, que el genotipo

to the fact that they expressed their maximum development potential, even on a poor soil, of low biological activity and with presence of argillic.

The CP contents in this study largely surpassed the contents reported by Ramos *et al.* (2008), who found between 21,31 and 26,56% CP in the blue accessions, and between 23,81 and 24,56%

azul tenía alrededor de 45 legumbres por planta y fue superado por el blanco (70). El NSL fue significativamente superior en el genotipo blanco; sin embargo, no se observaron diferencias en cuanto a la LS y la AS. Entre los dos genotipos se encontraron diferencias en el contenido de PC, que fue mayor en el azul (tabla 1). El alto contenido de PC se puede asociar al manejo orgánico de las plantas durante su establecimiento (fig. 4I-L) y a la distribución de las precipitaciones en las diferentes etapas del cultivo, lo que pudo contribuir a que estas expresaran su máximo potencial de desarrollo, aun en un suelo pobre, de baja actividad biológica y con presencia de argílico.

Los contenidos de PC en esta investigación superaron ampliamente los señalados por Ramos *et al.* (2008), quienes encontraron entre 21,31 y 26,56% de PC en las accesiones azules, y entre 23,81 y 24,56% en las blancas; así como el 23% de PC indicado por Marín, Carías, Cioccia y Hevia (2003). También fueron mayores a los reportados para árboles y arbustos forrajeros recomendados como alternativa alimenticia para la ganadería bovina (García y Medina, 2006; Delgado y Ramírez, 2008). En este sentido, los resultados descritos son relevantes, si se considera que se le ha dado mayor importancia al perfil nutricional –en términos de proteína– de la biomasa de los árboles y los arbustos, comparados con otras especies herbáceas o rastreras. En cuanto al porcentaje de MS, no se observaron diferencias entre los genotipos (tabla 2); los valores se consideraron altos y cercanos a los reportados por Ramos *et al.* (2008), quienes obtuvieron 90,58 y 96,23% en la accesión azul, y 95,57 y 96,11% en la blanca.

El análisis de las características morfológicas y de crecimiento de los genotipos azul y blanco permitió concluir que ambos presentaron un comportamiento semejante en las diferentes fases de desarrollo de la planta: vegetativa, floración, y producción de legumbres y semillas. El azul se caracterizó por su mayor vigor o crecimiento y su alta capacidad de ramificación, y el blanco por su elevada producción de legumbres y semillas, los cuales constituyen importantes

in the white ones; as well as 23% of CP indicated by Marín, Carías, Cioccia and Hevia (2003). They were also higher than the ones reported for forage trees and shrubs recommended as feeding alternative for cattle rearing (García and Medina, 2006; Delgado and Ramírez, 2008). In this sense, the described results are relevant, if it is considered that higher importance has been ascribed to the nutritional profile –in terms of protein– of the biomass of trees and shrubs, as compared to other herbaceous or creeping species. Regarding the DM percentage, no differences were observed between the genotypes (table 2); the values were considered high and close to those reported by Ramos *et al.* (2008), who obtained 90,58 and 96,23% in the blue accession, and 95,57 and 96,11% in the white one.

The analysis of the morphological and growth characteristics of the blue and white genotypes allowed concluding that both showed a similar performance in the different plant development stages: vegetative, flowering, and pod and seed production. The blue genotype showed higher vigor or growth and high branching capacity, and the white one had high pod and seed production, which constitute important morphological indicators. Based on the DM and CP contents and on the fast growth of this herbaceous legume, it is recommended as a short-term supplementary protein source; and, in addition, the application of (leached) cattle manure or any other manure from the same production units is suggested. The obtained results contribute to the characterization of this species and its management, which has not been reported in Venezuela, and lay the foundations for continuing studies related the management of this crop.

Acknowledgement

To the CONDES-LUZ for the funding granted under the research projects No. 0216-12 and to the university nursery of LUZ for providing its facilities.

--End of the English version--

indicadores morfológicos. Basado en los contenidos de MS y de PC y en el rápido crecimiento de esta leguminosa herbácea, se recomienda como una fuente proteínica complementaria a corto plazo; así como se sugiere la aplicación del estiércol bovino (lavado) u otro procedente de las mismas unidades de producción. Los resultados obtenidos contribuyen a la caracterización de esta especie y su manejo, lo que no se ha reportado en Venezuela, y sientan las bases para la continuación de estudios relacionados con la fitotecnica y manejo de este cultivo.

Agradecimientos

Al CONDES-LUZ por la subvención otorgada bajo los proyectos de investigación No. 0216-12 y al vivero universitario de LUZ por proporcionar sus instalaciones.

Referencias bibliográficas

- AOAC. 1995. Official methods of analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C. 1298 p.
- Azcón, J. & Talón, M. 2008. Fundamentos de Fisiología Vegetal. 2ª ed. McGraw-Hill Interamerican. Madrid, España. 651 p.
- Barceló, J.; Rodrigo, G.; Sabater, B. & Sánchez, R. 2005. Fisiología vegetal. Editorial Pirámide. Madrid, España. 566 p.
- Bugarín, J. et al. 2009. Evaluación de dos especies de *Leucaena* asociadas a *Brachiaria brizantha* y *Clitoria ternatea* en un sistema silvopastoril en Nayarit, México. I. Comportamiento agronómico. *Pastos y Forrajes*. 32:369
- Cruz, M. & Siqueira, D. 2006. Florescimento da tangerineira 'Ponkan' e da limeira ácida 'Tahiti' submetidas ao estresse hídrico. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 28 (3):360. [Disponible en:] http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452006000300006&lng=en&nrm=iso
- Delgado, H. & Ramírez, L. 2008. Árboles y arbustos forrajeros como alternativa alimenticia para la ganadería bovina y su impacto sobre la productividad animal. En: Desarrollo sostenible de la ganadería doble propósito. (Eds. C. González y E. Soto). Fundación GIRARZ. Ediciones Astro Data S.A. Maracaibo, Venezuela. p. 385
- Faría, J. & González, B. 2008. Nuevas especies de gramíneas forrajeras para el desarrollo sostenible de los sistemas ganaderos de doble propósito. En: Desarrollo sostenible de la ganadería doble propósito. (Eds. C. González y E. Soto). Fundación GIRARZ. Ediciones Astro Data S.A. Maracaibo, Venezuela. p. 363
- García, D.E. & Medina, María G. 2006. Composición química, metabolitos secundarios, valor nutritivo y aceptabilidad relativa de diez árboles forrajeros. *Zootecnia Tropical*. 24 (3):233
- González, J. & Chow, L. 2008. Comportamiento agronómico y productivo de nueve leguminosas herbáceas forrajeras, en el municipio de Muy Muy, Matagalpa. Tesis. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional Agraria. Nicaragua. 84 p.
- Hurtado, L.; Vega, S.; Ramos, Y. & Álvarez, O. 2008. Estudio de la incidencia de plagas y enfermedades en una colección de conchita azul (*Clitoria ternatea*). *Ciencia y Tecnología Ganadera*. 2 (1):13
- IPGRI. 1984. Forage legume descriptors. International Plant Genetic Resources Institute. Roma. 30 p.
- Larreal M.; Jiménez, L.; Wilhelmus, P. & Noguera N. 2004. Aspectos micromorfológicos, morfológicos, físicos y químicos de los Typic Haplargids en la altiplanicie de Maracaibo. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 21:257
- Lindorf, H.; Parisca, L. & Rodríguez, P. 1999. Botánica, clasificación, estructura y reproducción. 2ª. ed. Universidad Central de Venezuela. Ediciones de la Biblioteca. Caracas, Venezuela. 584 p.
- López, R. et al. 2011. Respuesta de combinaciones *Rhizobium-Clitoria ternatea* en condiciones de estrés salino en el Valle del Cauto en Cuba. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 2 (2):199
- Marín, A.; Carías, D.; Cioccia, A. & Hevia, P. 2003. Valor nutricional de los follajes de *Musa paradisiaca* y *Clitoria ternatea* L. como diligentes de raciones para pollos de engorde. *Interciencia*. 28:51
- Medel, C. 2008. Evaluación de la densidad de plantas en el rendimiento y calidad de semilla de *Clitoria ternatea* cv. Tehuana. Tesis profesional para obtener el título de Licenciado en Zootecnia. Universidad del Papaloapan. Oaxaca, México. 67 p.
- Medina, F. et al. 1996. Efecto de la edad y el genotipo sobre el crecimiento del área foliar en el frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 13:61
- Morris, J. 2009. Characterization of butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) accessions for morphology, phenology, reproduction and potential nutraceutical, pharmaceutical trait utilization. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 56 (3):421. [Disponible en :] <http://link.springer.com/article/10.1007/s10722-008-9376-0/fulltext.html>

- Pantone. 2004. Pantone ® formula guide printer edition 2003-2004 coated/ uncoated.
- Piña, S. & Bautista, D. 2006. Evaluación del crecimiento vegetativo de cultivares de vid para mesa bajo condiciones de trópico semiárido de Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 23 (4):407
- Polo, E. 2004. *Clitoria ternatea* (L.), excelente leguminosa forrajera para el trópico panameño. *PROMEGA*. 1:13
- Portillo, A.; Razz, R.; Marín, M. & Araujo, O. 2009. Dinámica de crecimiento en plantas de añil dulce (*Indigofera hirsuta* L.). *Asociación Latinoamericana de Producción Animal*. 17 (3-4):91
- Ramos, Y. *et al.* 2008. Diversidad de accesiones de conchita azul (*Clitoria ternatea* L.) recolectadas en zonas ganaderas de Cuba. *Ciencia y Tecnología Ganadera*. 2:19
- Raven, P.; Evert, R. & Eichhorn, S. 2005. Biology of plant. Seventh edition. W.H. Freeman and Company Publishers. New York, USA. 686 p.
- Rodríguez, O., Orlando, J. & Fischer G. 2007. Balance hídrico e influencia del estrés hídrico en la inducción y desarrollo floral de la mandarina 'Arrayana' en el piedemonte llanero de Colombia. *Agronomía Colombiana*. 25 (2):255
- Rojas, S.; Olivares, J.; Jiménez, R. & Hernández, E. 2005. Manejo de praderas asociadas de gramíneas y leguminosas para pastoreo en el trópico. *Revista Electrónica de Veterinaria (REDVET)*. VI (5). <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050505/050509.pdf>
- Romero, M.A. 2012. Comportamiento fisiológico del aguacate (*Persea americana* Mill.) variedad Lorena en la zona de Mariquita, Tolima. Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de Magister en Ciencias Agrarias, Área Fisiología de Cultivos. Universidad Nacional de Colombia. 135 p.
- Rosales, M. 1999. Mezclas de forrajes: uso de la diversidad forrajera tropical en sistemas agroforestales. En: Agroforestería para la producción animal en América Latina. (Eds. M.D. Sánchez y M. Rosales). FAO. Roma, Italia. p. 201

Recibido el 13 de abril del 2012

Aceptado el 14 de septiembre del 2012