

Propagation and initial growth of *Brugmansia suaveolens*, species with ethnoveterinary uses in the Amazon region of Ecuador

Propagación y crecimiento inicial de *Brugmansia suaveolens*, especie con usos etnoveterinarios en la región amazónica del Ecuador

R.Abril¹, T. Ruiz², J. Alonso² and Génova Cabrera³

¹Universidad Estatal Amazónica, Departamento de Ciencias de la Vida, Carrera de Ingeniería Ambiental, km 2 ½
Vía a Napo, Pastaza, Ecuador

²Instituto de Ciencia Animal, Departamento de Pastos y Forrajes, Apartado Postal 24, San José de las Lajas,
Mayabeque, Cuba

³PRAGROS, km 2 ½, vía a Tarqui, Pastaza, Ecuador
Email: rvabril@uea.edu.ec

In order to determine propagation characteristics and initial growth of *Brugmansia suaveolens*, cuttings were extracted from the basal and intermediate sections of the central stem with the application of concentrations of 0, 50 and 100 ppm of naphthaleneacetic acid. The appearance of callus and roots, diameter of the sprout, plant height and percentage of bud germination at 10, 15, 30 and 45 d was recorded. In the best treatments, initial growth was later controlled up to 320 d, from the sprout appearance in the measures of plant height and stem diameter. Therefore, linear and non-linear models were applied. The number of leaves and length of branches was also registered with the application of an analysis of variance for different sampling times. Cuttings taken from the basal section had less days for the appearance of the callus, with a mean of 7.5. They reached a height of 17.25 cm at 45 d. In growth, the quadratic model showed better adjustment for plant height with rates between 0.15 and 0.11 cm/d. For sprout diameter, the linear model was superior, with a rate of 0.024 mm/d. There was a predominance of green leaves and regarding the length of branches, differences were found for different seasons. It is concluded that the species did not stop its growth during the first 320 d after planting. Emission, growth of branches, and number of leaves were also important elements for growth.

Key words: *height, plant diameter, establishment, auxins*

The propagation of species that are not exploited at large scale makes it necessary to know their different stages of propagation and growth. Among the mechanisms of propagation, vegetative allows obtaining plants with identical characteristics to the mother plant, and also contributes to the preservation of the species. Plant growth involves physiological characteristics of the species, among which is the presence of hormones such as auxins, which intervene in almost all stages of the life cycle, since they promote the formation of lateral and adventitious roots and induce vascular differentiation (Jordán and Casaretto 2006).

These hormones also have an important function in the expansion of stem cells and stimulate cell division (Lira 2013). Auxins are found naturally, although they can also be applied by synthetic compounds in this type of propagation to obtain better results.

Plant growth is a consequence of the division and elongation of cells and of the process of cell differentiation or specialization. Growth can be

Para determinar las características de propagación y crecimiento inicial de *Brugmansia suaveolens*, se evaluaron estacas extraídas de las secciones basal e intermedia del tronco central con aplicación de concentraciones de 0, 50 y 100 ppm de ácido naftalén acético. Se registró la aparición de callo y raíces, diámetro del brote, altura de la planta y porcentaje de prendimiento a los 10, 15, 30 y 45 d. En los mejores tratamientos, se controló posteriormente el crecimiento inicial hasta los 320 d, desde la aparición del brote en las medidas altura de la planta y diámetro del tallo. Se aplicaron para ello modelos lineales y no lineales. Se registró también el número de hojas y longitud de ramas con la aplicación de un análisis de varianza para diferentes épocas de muestreo. Las estacas extraídas de la sección basal presentaron menor número de días para la aparición del callo, con promedio de 7.5. Alcanzaron altura de 17.25 cm a los 45 d. En crecimiento, el modelo cuadrático mostró mejor ajuste para la altura de la planta con tasas entre 0.15 y 0.11 cm/d. Para el diámetro del brote, fue superior el modelo lineal, con tasa de 0.024 mm/d. Hubo predominio de hojas verdes y con respecto al largo de ramas se constataron diferencias para las diferentes épocas. Se concluye que la especie no detuvo su crecimiento durante los primeros 320 d posteriores a la plantación. La emisión, el crecimiento de ramas, y el número de hojas fueron también elementos importantes para el crecimiento.

Palabras clave: *altura, diámetro de la planta, prendimiento, auxinas*

La propagación de especies que no se explotan a gran escala hace que sea necesario conocer sus diferentes etapas de propagación y crecimiento. Entre los mecanismos de propagación, el vegetativo permite obtener plantas con características idénticas a la planta madre, y contribuye además a la preservación de las especies. En el crecimiento vegetativo se involucran características fisiológicas de la especie, entre las que se halla la presencia de hormonas como las auxinas, que intervienen en casi todos los estados del ciclo vital, ya que promueven la formación de raíces laterales y adventicias e inducen la diferenciación vascular (Jordán y Casaretto 2006). Estas hormonas también desempeñan una función importante en la expansión de células de tallos y estimulan la división celular (Lira 2013). Las auxinas se encuentran en forma natural, aunque también se pueden aplicar mediante compuestos sintéticos en este tipo de propagación para obtener mejores resultados.

El crecimiento vegetal es consecuencia de la división y elongación de las células y del proceso de diferenciación o especialización celular. El crecimiento se puede evaluar

evaluated according to plant height, stem diameter and development of leaves (Abril *et al.*, 2017), indicators that can be described through the application of mathematical models. According to Rodríguez and Leihner (2005), growth can be described with the use of mathematical functions, in which the parameters that define a model are determined by linear and non-linear regression analysis. Rodríguez (2015) refers to the frequent use of Gompertz and Logistic models. This growth is represented according to time through three phases: the initial one, in which growth is little; the exponential, which shows the highest rate of development; and aging, in which the plant stops growing (Vilches *et al.*, 2015).

Brugmansia suaveolens (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Sweet (Missouri Botanical Garden 2016), from Solanaceae Juss family, is a tree of 4 m height. Its flowers are white, with strong and intense fragrance that may be irritating and sometimes provokes headache. The fruit of this plant is light green like a cucumber and thin skin.

This species is used for improving hunt abilities of dogs. A study of Castelblanco *et al.* (2013) also reported potentialities of *B. arborea* for tick control. Montanucci *et al.* (2012) have paid attention to the study of this compounds.

The objective of this research was to determine propagation characteristics of *B. Suaveolens* and describe its initial growth up to 320 d.

Materials and Methods

Experiment locations. Measuring of initial growth was carried out in a plot from the Centro de Investigaciones, Posgrado y Conservación de la Amazonía (CIPCA), belonging to the Universidad Estatal Amazónica. This facility is located in Santa Clara and Arosemena Tola cantons, from Pastaza and Napo provinces, respectively. Abril *et al.* (2017) have referenced this location and edaphoclimatic characteristics.

Climate conditions during the stage of evaluation. Records of automatic meteorological station Pindo Mirador, located at 35 km from the place where trials were conducted, indicate that for precipitation variable for the period between April 2014 and June 2015 (figure 1), the highest values of precipitations were reported in January and March 2015 and the lowest in September 2014. Mean temperature for March 2014-June 2015 (figure 1) showed values between 16 and 18 °C. The lowest temperatures were located during September and October, and the highest in March and May. The soil of the area is clay frank and with strong acidity.

Experimental procedure. The species *Brugmansia suaveolens* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Sweet (Missouri Botanical Garden 2016) was used, belonging to the Solanaceae Juss family, also known as angel's trumpet.

Cuttings extracted from the intermediate and basal sections of the stem were used for the test. For the

atendiendo a la altura de la planta, diámetro del tallo y desarrollo de las hojas (Abril *et al.* 2017), indicadores que pueden ser descritos mediante la aplicación de modelos matemáticos. Según Rodríguez y Leihner (2005), el crecimiento se puede describir con la utilización de funciones matemáticas, en las que los parámetros que definen un modelo se determinan mediante análisis de regresión lineal y no lineal. Rodríguez (2015) hace referencia al uso frecuente de los modelos de Gompertz y Logístico. Este crecimiento se representa en función del tiempo mediante tres fases: la inicial, en la que es poco el crecimiento; la exponencial, que muestra la mayor tasa de desarrollo; y la de envejecimiento, en la cual la planta deja de crecer (Vilches *et al.* 2015).

Brugmansia suaveolens (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Sweet (Missouri Botanical Garden 2016), de la familia Solanaceae Juss, es un árbol de 4 m de altura. Sus flores son de color blanco, con fragancia fuerte e intensa, que puede resultar irritante y provocar, en ocasiones, dolor de cabeza, fruto en forma de pepino, piel fina y verde claro. La especie se utiliza para mejorar las capacidades de caza de los perros. En un trabajo de Castelblanco *et al.* (2013) se ha informado también de las potencialidades de *B. arborea* para el control de las garrapatas. Montanucci *et al.* (2012) han prestado atención al estudio de sus compuestos.

El objetivo de esta investigación fue determinar las características de propagación de *B. Suaveolens* y describir su crecimiento inicial hasta los 320 d.

Materiales y Métodos

Localización de los experimentos. La medición del crecimiento inicial se realizó en una parcela del Centro de Investigaciones, Posgrado y Conservación de la Amazonía (CIPCA), perteneciente a la Universidad Estatal Amazónica. Esta instalación se halla en los cantones Santa Clara y Arosemena Tola, de las provincias de Pastaza y Napo, respectivamente. Abril *et al.* (2017) han referenciado su ubicación y características edafoclimáticas.

Condiciones meteorológicas en la etapa de evaluación. Los registros de la estación meteorológica automática Pindo Mirador, ubicada a 35 km del sitio donde se desarrollaron los ensayos, indican que en la variable precipitación para el período abril 2014 – junio 2015 (figura 1), los valores más altos se reportaron en enero y marzo 2015, y los más bajos en septiembre de 2014. La temperatura media para marzo 2014 – junio 2015 (figura 1) mostró valores entre 16 y 18 °C. Las temperaturas más bajas se localizaron en septiembre y octubre, y las más altas en marzo y mayo. El suelo del área es franco arcilloso y de acidez fuerte.

Procedimiento experimental. Se trabajó con la especie *Brugmansia suaveolens* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Sweet (Missouri Botanical Garden 2016), perteneciente a la familia Solanaceae Juss, también conocida como guanto, floripondio o campana.

Para el ensayo se utilizaron estacas extraídas de las

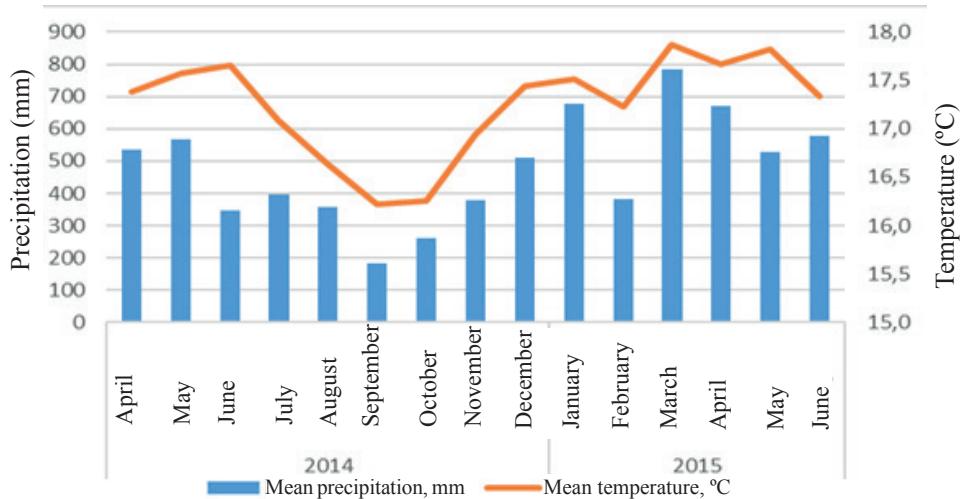


Figure 1. Performance of precipitation and mean temperature in the station Pindo Mirador in the period from April 2014 to June 2015

propagation test, fully developed plants were used to extract the material to be used in the propagation tests. Plant material was taken from a single plant, selecting 180 cuttings of 15 cm in length. The diameter used in the basal section was 2.1 to 4 cm and in the intermediate section, from 1 to 2 cm.

One end of the cuttings was submerged in solutions with concentrations of 25, 50 and 0 ppm of naphthaleneacetic acid (ANA). They were put to rest for an hour and later they were planted. Trials were conducted on field conditions, in rooting beds of 0.5 x 1m. An experimental design of completely random blocks was applied, with a factorial arrangement of 2 diameters x 3 concentrations and 3 replications. Ten cuttings were used per bed.

The treatment that showed the best characteristics in this stage was used for the initial growth test.

The place where the initial growth trial was developed presents undulating topography, enhancement forest formation, soil with compact clay characteristics, deficient drainage and slope of 5 %. An amount of 1,000 m² were used in this area, which was previously prepared manually. The work consisted of clearing, chopping off and removal of the plant cover of the whole area.

Soil preparation was carried out with a hoe, in strips 12 m wide and 18 m long. Furrows were set apart at 2.5 m with 10 m long and repeated five times. An amount of 50 cuttings of 15 cm long were planted at a distance of 1 m. Furrows were randomly distributed in the trial area, where other plant species were also being evaluated under the same system. The species was planted in May 2014.

In the propagation test, the following measures were recorded:

- Days for callus formation (70 % of cuttings with callus formation were considered).
- Days for roots generation (it was considered 70 % of stems with root generation).

secciones intermedia y basal del tallo. Para la prueba de propagación, se emplearon plantas completamente desarrolladas para extraer el material a utilizar en las pruebas de propagación. Se tomó el material vegetal de una sola planta, seleccionando 180 estacas de 15 cm de longitud. El diámetro utilizado en la sección basal fue de 2,1 a 4 cm y en la intermedia, de 1 a 2 cm.

Se sumergió un extremo de la estaca en soluciones con concentraciones de 25, 50 y 0 ppm de ácido naftalén acético (ANA). Se dejó reposar durante una hora y posteriormente se procedió a la plantación. Los ensayos se realizaron en condiciones de campo, en camas de enraizamiento de 0.5 x 1m. Se aplicó un diseño experimental de bloques completos al azar, en arreglo factorial 2 diámetros x 3 concentraciones y tres réplicas. Se utilizaron 10 estacas por cama.

El tratamiento que presentó mejores características en esta fase se usó para el ensayo de crecimiento inicial.

El lugar donde se desarrolló el ensayo de crecimiento inicial presenta topografía ondulada, formación de bosque de realce, suelo con características de arcilla compacta, drenaje deficiente y pendiente del 5 %. Se utilizaron 1 000 m² en esta área, que fue previamente acondicionada de forma manual. Las labores consistieron en desbroce, destronque y eliminación de la cubierta vegetal de toda el área.

La preparación del suelo se realizó con azadón, en franjas de 12 m de ancho y 18 m de largo. Los surcos se establecieron separados a 2.5 m con 10 m de largo y se repitieron cinco veces. Se plantaron 50 estacas de 15 cm de longitud, a una distancia de 1 m. Los surcos se distribuyeron al azar en el área del ensayo, donde también se encontraban otras especies vegetales en evaluación el mismo sistema. La especie se plantó en mayo de 2014.

En el ensayo de propagación se registraron las siguientes medidas:

- Días para la formación del callo (se consideró 70 % de estacas con formación del callo).
- Días para la generación de raíces (se consideró

- Plant height (cm) at 10, 15, 30 and 45 d (from the soil surface to the end of the shoot).
- Percentage of bud germination at 10, 15, 30 and 45 d.

In the initial growth trial, observations were carried out every 30 d until 320 d from the appearance of the sprout. At each sampling time, measurements were taken from 10 plants (two per furrow). The individuals used varied at each time of measurement. Height (cm), diameter of the stem (mm), total number of leaves, average length of branches (cm) and flowering time (days) were recorded.

Height was considered from the surface of the soil to the apical bud. To measure it, a tape measure was used. The diameter of the shoot was measured with a vernier caliper (Stanley mark with 0.05 mm accuracy) below the first shoot. In each plant the number of green, yellow and dry leaves was counted and the total number of leaves was calculated. As yellow leaves were considered those that possessed more than 50% of their leaf area of this color. Average length of the branches in each species was measured from the main stem up to the final bud of the branch, with the use of a tape measure. Three branches were taken at random in each plant. This species showed flowering in the study period.

Statistic analysis. The data of days to shoot emergence, root generation and callus formation were transformed according to the arcsine function and percentage of the bud germination with square root function (Herrera 2013), since they did not show a normal distribution in the counting result. Mean comparison analysis of Duncan (1955) and analysis of variance were applied through INFOSTAT program (Di Rienzo *et al.* 2014). The Table Curve 2D program (Systat Software Inc. 2002) was used, which allows to evaluate a high number of models (more than 1 000) that can be adjusted to the data obtained to describe the performance of the variables plant height and stem diameter. Specifically, the logistic, exponential, linear, quadratic and cubic models were used. Gompertz model was also applied through the Statgraphics program (Statistical Graphics Corp 2014). Model selection, for each case, was carried out according to the criteria established by Díaz *et al.* (2014), who indicated that it should be chosen those with probability "P" value is significant and have a higher determination coefficient (R^2), lower standard error and significance of model parameters.

To these criteria, given the interests of this study, the simplicity of the model was included as an element for its selection. In the analyzed equations, the variable "X" corresponds to the age of the plant in days and "Y" to plant height or stem or shoot diameter. Growth performance for plant height and stem diameter with the accumulated precipitation in each sampling period was also evaluated.

Analysis of variance was performed for the variables total number of leaves and branch length and Duncan

70 % de estacas con generación de raíces).

- Altura de la planta (cm) a los 10, 15, 30 y 45 d (de la superficie del suelo hasta el extremo del brote).
- Porcentaje de prendimiento a los 10, 15, 30 y 45 d.

En el ensayo de crecimiento inicial, las observaciones se realizaron cada 30 d hasta los 320 d desde la aparición del brote. En cada momento de muestreo se tomaron medidas en 10 plantas (dos por surco). Variaron los individuos utilizados en cada momento de medición. Se registró la altura (cm), diámetro del tallo (mm), número total de hojas, largo promedio de las ramas (cm) y momento de floración (días).

La altura se consideró desde la superficie del suelo hasta la yema apical. Para medirla se utilizó una cinta métrica. El diámetro del brote se midió con un pie de rey (marca Stanley con 0,05 mm de precisión) debajo del primer brote. En cada planta se contó el número de hojas verdes, amarillas y secas, y se calculó el número total de hojas. Se consideraron hojas amarillas aquellas que poseían más de 50 % de su área foliar de este color. La longitud promedio de las ramas en cada especie se midió desde el tronco central hasta la yema final de la rama con el uso de una cinta métrica. Se tomaron tres ramas al azar en cada planta. La especie presentó floración en el período de estudio.

Análisis estadístico. Los datos de días a la aparición del brote, generación de raíces y formación del callo se transformaron según la función arcoseno y porcentaje de prendimiento con la función raíz cuadrada (Herrera 2013), puesto que las mismas no presentaron distribución normal en el resultado del conteo. Se aplicó el análisis de varianza y comparación de medias de Duncan (1955) mediante el programa INFOSTAT (Di Rienzo *et al.* 2014). Se utilizó el programa Table Curve 2D (Systat Software Inc. 2002), el cual permite evaluar alto número de modelos (más de 1 000) que se pueden ajustar a los datos obtenidos para describir el comportamiento de las variables altura de la planta y diámetro del tallo. Específicamente se utilizaron los modelos logístico, exponencial, lineal, cuadrático y cúbico. También se aplicó el modelo Gompertz mediante el programa Statgraphics (Statistical Graphics Corp 2014). La selección del modelo, para cada caso, se realizó según los criterios establecidos por Díaz *et al.* (2014), quienes indicaron que se deben escoger aquellos, cuyo valor de probabilidad "P" sea significativo, presenten mayor coeficiente de determinación (R^2), menor error estándar y significación de los parámetros del modelo. A estos criterios, dados los intereses de este estudio, se incorporó la simplicidad del modelo como elemento para su elección. En las ecuaciones analizadas, la variable "X" corresponde a la edad de la planta en días y "Y" a la altura de la planta o diámetro del tallo o brote. Se valoró también el comportamiento del crecimiento para la altura de la planta y diámetro del tallo con la precipitación acumulada en cada período de muestreo.

Para las variables número total de hojas y largo de la

(1955) test was applied for the comparison of means. Statistical package INFOSTAT version 2014 (Di Rienzo *et al.*, 2014) was used, and only the values of number of total leaves were transformed with the square root function (Herrera 2013). The analysis of green, yellow and dry leaves was performed according to the percentage.

In the transformed variables, a residue analysis was applied to verify the theoretical assumptions of variance homogeneity using Levene test with the use of the STATISTICA program.

Results and Discussion

There was interaction (table 1) between the part of the stem used as propagation material and the concentration of NAA for the measurement of days to callus generation. Cuttings extracted from the intermediate section and concentrations of 25 and 50 ppm of NAA, which had a higher number of days to callus generation, differed from the rest of the treatments. However, the lowest number of days to callus generation was obtained with the cuttings taken from the basal section, without

rama se realizó análisis de varianza y se aplicó la dócima de Duncan (1955) para la comparación de medias. Se empleó el paquete estadístico INFOSTAT versión 2014 (Di Rienzo *et al.* 2014), y solo los valores de número de hojas totales se transformaron con la función raíz cuadrada (Herrera 2013). El análisis de las hojas verdes, amarillas y secas se realizó en función del porcentaje.

En las variables transformadas se aplicó un análisis de residuos para comprobar los supuestos teóricos de homogeneidad de varianza mediante el Test de Levene con la utilización del programa STATISTICA

Resultados y Discusión

Hubo interacción (tabla 1) entre la parte del tallo utilizada como material de propagación y la concentración de ANA para la medida días a la generación del callo. Difirieron del resto de tratamientos las estacas extraídas de la sección intermedia y concentraciones de 25 y 50 ppm de ANA, que tuvieron mayor número de días a la generación del callo. Sin embargo, el menor número de días a la generación del callo, se obtuvo con las estacas extraídas de la sección basal, sin aplicación de ANA (0

Table 1. Days to callus generation in *B. Suaveolens*, with the use of different treatments

Naphthalene acetic acid concentration in ppm	Days to callus generation	
	Intermediate	Basal
25	3.61 ^c (13.0)	2.84 ^a (8.07)
50	3.22 ^b (10.42)	2.77 ^a (7. 67)
0	2.82 ^a (8.0)	2.74 ^a (7.50)
	Analysis of variance	Analysis of residues (test of Levene)
Valor de P	0.0375	0.062
EE (±)	0.12	

() Original means. Data transformed according to \sqrt{X} .

^{a, b, c}Values with common letters do not differ at $P < 0.05$ (Duncan 1955)

application of NAA (0 ppm).

The analysis of theoretical assumptions showed non-significant values in P value, which indicates that it fulfills the assumption of variance homogeneity.

In the absence of publications about the type of cuttings used for the propagation of *Brugmansia suaveolens*, as indicated above, only results in other species can be mentioned. Vásquez *et al.* (2011) reported lower percentages of callus formation in the cuttings with concentration of 0 ppm of IBA (indolebutyric acid) regarding those in which the hormone was applied. Bonfil *et al.* (2007) reported higher percentages of callus formation in cuttings in which IBA was not applied, compared to the cuttings in which it was incorporated (*B. copallifera* and *B. glabrifolia*).

ppm).

El análisis de supuestos teóricos mostró valores no significativos en el valor de P, lo cual indica que cumple el supuesto de homogeneidad de varianza.

Al no disponer de publicaciones acerca del tipo de estaca utilizado en la propagación de *Brugmansia suaveolens*, como se indicó antes, solo se pueden mencionar resultados en otras especies. Vásquez *et al.* (2011) informaron menores porcentajes de formación de callo en las estacas con concentración de 0 ppm de AIB (ácido indol butírico) con respecto a aquellas en las que se aplicó la hormona. Bonfil *et al.* (2007) refirieron mayores porcentajes de formación de callo en estacas en las que no se aplicó AIB, en comparación con las estacas en las que se incorporó (*B. copallifera* y *B. glabrifolia*).

Solís *et al.* (2015) in *Justicia tinctoria* did not report interaction between the stem section used and the application of different doses of IBA. However, their results indicate that cuttings in the basal section and concentrations of 0 ppm have lower rooting percentages compared to those in which hormone was applied. Rivera *et al.* (2016) indicated significant differences $P \leq 0.05$ in the interaction between AIB application dose and age of the cutting in the propagation of *Pinus patula*, in rooting percentage, and not significant differences in survival and callus presence.

Ruiz *et al.* (2005), in trials conducted with *Gmelina arborea* Roxb, which is a woody species, identified that the application of auxins with indolebutyric acid stimulates rooting in basal and intermediate cuttings, being the intermediate ones those with the best results. This differs from the results of this study, in which the cuttings of the basal section showed better results, without differences between the concentrations of applied NAA. This could be influenced by the presence of a higher number of lateral meristems, characteristic of more lignified tissues, such as the stems of the basal section, which generate adventitious roots without coming from the callus formed (Hartmann *et al.* 2014).

This demonstrates that interactions between cutting section and concentration of hormones do not show the same effect in different species, and neither influence on the same rate.

In the performance of plant height at 10 and 45 d (table 2), there was no information of interaction between the part of the stem used as propagation material and concentration of naphthalene acetic acid. However, there were significant differences for the part of the stem used as propagation material, where cuttings of basal section had better results than the intermediate section. On the contrary González *et al.* (2013) stated lower heights in *Thitonia diversifolia* with the use of the basal section of stem in studies in which the used stem section and plantation position

Solís *et al.* (2015) en *Justicia tinctoria* no informaron interacción entre la sección del tallo utilizada y la aplicación de diferentes dosis de AIB. Sin embargo, sus resultados indican que las estacas de la sección basal y concentraciones de 0 ppm presentan menores porcentajes de enraizamiento en comparación con aquellas en las que se aplicó hormona. Rivera *et al.* (2016) identificaron diferencias significativas $P \leq 0.05$ en la interacción entre dosis de aplicación de AIB y edad de la estaca en la propagación de *Pinus patula*, en la medida porcentaje de enraizamiento, y diferencias no significativas en supervivencia y presencia de callo.

Ruiz *et al.* (2005), en ensayos realizados en *Gmelina arborea* Roxb, que es una especie leñosa, identificaron que la aplicación de auxinas con el ácido indolbutírico estimula el enraizamiento en estacas basales e intermedias, siendo las intermedias las de mejores resultados. Esto difiere de los resultados de este trabajo, en el que las estacas de la sección basal mostraron mejores resultados, sin presentar diferencias entre las concentraciones de ANA aplicadas. En esto pudo influir la presencia de mayor número de meristemos laterales, característicos en tejidos más lignificados, como es el caso de los tallos de la sección basal, que generan raíces adventicias sin que procedan del callo formado (Hartmann *et al.* 2014).

Esto demuestra que las interacciones entre el factor sección de estaca y concentración de hormonas no presentan los mismos efectos en especies diferentes, y tampoco influyen en la misma medida.

En el comportamiento de la altura de la planta a los 10 y 45 d (tabla 2), no se informó interacción entre los factores parte del tronco utilizada como material de propagación y concentración de ácido naftalén acético. Pero sí se identificaron diferencias significativas para la parte del tallo utilizado como material de propagación, donde las estacas de la sección basal tuvieron mejores resultados que la sección intermedia. Al contrario, González *et al.* (2013) refirieron menores alturas en *Thitonia diversifolia* con el uso de la sección basal del tallo en estudios en los que se analizó

Table 2. Performance of plant height of *Brugmansia suaveolens* at 30 and 45 d, with the use of different parts of the stem as propagation material

Part of the main stem used as propagation material	Plant height (cm) at 45 d	Plant height (cm) at 45 d
Intermediate	9.13 ^b	11.72 ^b
Basal	13.55 ^a	17.25 ^a
Value of P	0.013	0.0007
SE (\pm)	1.08	0.81

^{a, b} Values with common letters do not differ at $P < 0.05$ (Duncan 1955)

were analyzed.

Plant height, at 10, 15 and 30 d, and bud germination percentage in the different sampling moments did not have significant differences among treatments. Its mean values were 13 d to root generation ($SE \pm 0.22$); 33 d at

la sección del tallo utilizada y la posición de plantación.

La altura de la planta, a los 10, 15 y 30 d, y el porcentaje de prendimiento en los diferentes momentos de muestreo no tuvieron diferencias significativas entre tratamientos. Sus valores promedio fueron 13 d a la

the appearance of shoot ($SE \pm 1.21$); 10 d at the plant height of 5.83 cm ($SE \pm 0.61$) and 15 d at the height of 7.39 cm ($SE \pm 0.88$); 6 % of cutting germination at 10 and 15 d ($SE \pm 0.07$) and 33 % at 30 and 45 d ($SE \pm 0.08$).

In researches carried out by other authors in other species, better results were reported in establishment and height of *Pinus leiophylla*, with the use of cuttings from the basal section (Cuevas 2014).

With regard to the species under study, only *in vitro* trials are available for the propagation of plants by means of sexual seed. Montanucci *et al.* (2012) reported high percentages of seed germination of the species in pre-germinative treatments, which include exposure to light and the application of gibberellins. Considering that no plants with fruit were found in the study area due to the non-fertilization of the flower, it can be affirmed that propagation by means of cuttings from the basal section is a feasible option of propagation for the producers.

In growth models, evaluated for the height and stem diameter (table 3), all models were significant in the "P" value. In stem diameter, non-significant values were presented in parameters a and b of Gompertz and logistic models. In the cubic model, significant values were reported in parameters a and b, and not significant in parameters c and d for plant height and stem diameter, so they were discarded.

Cubic model for height growth and exponential for diameter of the shoot reported a higher coefficient of determination (R^2) and lower standard error. But, from the criterion of simplicity of the model, the quadratic was selected to describe the performance in height, and the linear for stem diameter, which have the same coefficient of determination and higher standard error. This indicates that there was growth in plant height and stem diameter, with different characteristics (figure 2).

This species grew throughout the evaluation period. The quadratic model showed the best fit for plant height. It showed an initial growth rate of 0.15 cm/d up to 270 d of evaluation (figure 2). Subsequently, this rate decreased to 0.11 cm/d until 320 d. There was no asymptote in the curve in the evaluated time, which suggests that it continues in the plant growth phase. There was flowering in 30.8 % of the plants, at 140 and 240 d. This character did not affect growth, in addition, these flowers were not fertilized and detached several weeks after their appearance. Bedoya *et al.* (2009) stated that in plants of the *Brugmansia aurea* species, there is no uniformity in the flowering periods, which agrees with the results of this study, where there was flowering only in a percentage of the total number of plants.

When describing the performance of the sprout diameter, the linear model had a better fit and a constant increase of 0.024 mm was observed. The largest diameter of the sprout (15.18 mm) was reached at 320 d (Figure 3).

generación de raíces ($EE \pm 0.22$); 33 d a la aparición del brote ($EE \pm 1.21$); 10 d a la altura de la planta de 5.83 cm ($EE \pm 0.61$) y 15 d a la altura de 7.39 cm ($EE \pm 0.88$); porcentaje de prendimiento de estacas de 6 % a los 10 y 15 d ($EE \pm 0.07$) y 33 % a los 30 y 45 d ($EE \pm 0.08$).

En investigaciones realizadas por otros autores en otras especies se informaron mejores resultados con el uso de estacas de la sección basal en prendimiento y altura de *Pinus leiophylla* (Cuevas 2014).

Con respecto a la especie en estudio, solo se dispone de ensayos realizados *in vitro* para la propagación de plantas por medio de semilla sexual. Montanucci *et al.* (2012) informaron altos porcentajes de germinación de las semillas de la especie en tratamientos pregerminativos, que incluyen la exposición a la luz y la aplicación de giberelinas. Al considerar que no se encontraron plantas con fruto en la zona de estudio, por la no fecundación de la flor, se puede afirmar que la propagación por medio de estacas tomadas de la sección basal, es una vía factible de propagación para los productores.

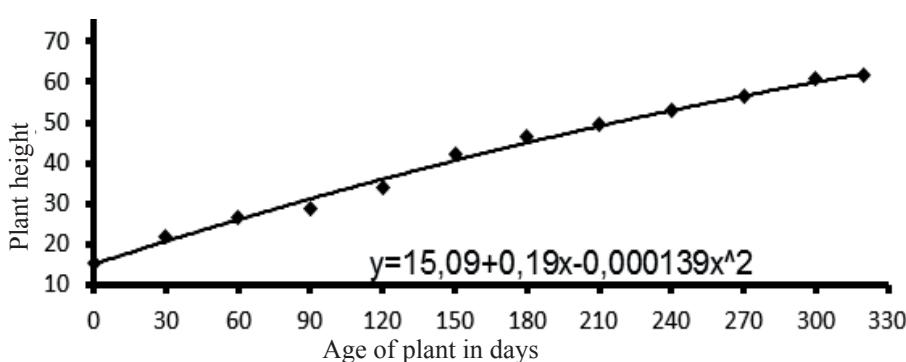
En los modelos de crecimiento, evaluados para la medida altura y diámetro del tallo (tabla 3), todos los modelos fueron significativos en el valor de "P". En el diámetro del tallo, presentaron valores no significativos en los parámetros a y b de los modelos de Gompertz y logístico. En el modelo cúbico se informaron valores significativos en los parámetros a y b, y no significativos en los parámetros c y d para la altura de la planta y diámetro del tallo, por lo que se descartaron. El modelo cúbico para el crecimiento en altura y el exponencial para diámetro del brote informaron mayor coeficiente de determinación (R^2) y menor error estándar. Pero desde el criterio de la simplicidad del modelo, se seleccionó el cuadrático para describir el comportamiento en altura, y el lineal para el diámetro del tallo, que presentan el mismo coeficiente de determinación y mayor error estándar. Esto indica que hubo crecimiento en altura de la planta y diámetro del tallo, con características diferentes (figura 2).

La especie creció durante todo el período de evaluación. El modelo cuadrático se presentó como el de mejor ajuste para la altura de la planta. Mostró una tasa de crecimiento inicial de 0.15 cm/d hasta los 270 d de evaluación (figura 2). Posteriormente, esta tasa disminuyó a 0.11 cm/d hasta los 320 d. No presentó asíntota en la curva en el tiempo evaluado, lo que sugiere que continúa en fase de crecimiento vegetativo. Hubo floración en 30.8 % de las plantas, a los 140 y 240 d. Este carácter no incidió en el crecimiento, además estas flores no fueron fecundadas y se desprendieron varias semanas después de su aparición. Bedoya *et al.* (2009) plantearon que en plantas de la especie *Brugmansia aurea* no existe uniformidad en los períodos de floración, lo que concuerda con los resultados de este estudio, donde hubo floración solo en un porcentaje del total de plantas.

Al describir el comportamiento del diámetro del brote, el modelo lineal tuvo mejor ajuste y se observó incremento constante de 0.024 mm/d. El mayor diámetro

Tabla 3. Evaluated models for growth in height and diameter of the stem of *Brugmansia suaveolens*

Model	Significance			Criterium	Parameter significance			
	P>F	R ²	SE (±)		a	b	c	d
Height	Gompertz	0.000	0.95	Estimated value	78.00	1.6	0.01	
				SE (±)	4.86	0.05	0.001	
				Value of P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	
	Logistic	0.000	0.98	Estimated value	68.69	3.18	0.01	
				SE (±)	2.57	0.171	0.001	
				Value of P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	
	Exponential	0.000	0.98	Estimated value	22.44	0.003		
				SE (±)	1.67	0.003		
				Value of P	<0.0001	<0.0001		
Sprout diameter	Lineal	0.000	0.99	Estimated value	17.28	0.15		
				SE (±)	1.05	0.01		
				Value of P	.0000	0.0000		
	Quadratic	0.000	0.99	Estimated value	15.09	0.19	-0.001	
				SE (±)	1.05	0.02	0.0001	
				Value of P	.0000	.0000	0.01	
	Cubic	0.000	0.99	Estimated value	15.89	0.15	0.0002	0.000001
				SE (±)	1.2	0.03	0.00001	0.000001
				Value of P	<0.0001	0.002	0.51	0.245
Sprout diameter	Gompertz	0.000	0.95	Estimated value	152.04	2.96	0.001	
				SE (±)	839.85	5.58	0.002	
				Value of P	0.83	0.56	0.324	
	Logistic	0.0000	0.95	Estimated value	36.21	3.63	0.003	
				SE (±)	45.58	5.42	0.002	
				Value of P	0.44	0.52	0.122	
	Exponencial	0.000	0.95	Estimated value	8.01	0.002		
				SE (±)	0.28	0.0002		
				Value of P	<0.0001	<0.0001		
Sprout diameter	Lineal	0.000	0.95	Estimated value	7.63	0.02		
				SE (±)	0.34	0.002		
				Value of P	<0.0001	<0.0001		
	Quadratic	0.000	0.92	Estimated value	8.9	0.0001		
				SE (±)	0.328	0.00001		
				Value of P	<0.0001	<0.0001		
	Cubic	0.000	0.97	Estimated value	8.54	0.01	0.0003	-0.000001
				SE (±)	0.43	0.01	0.0001	0.0000002
				Value of P	<0.0001	0.368	0.024	0.033

Figure 2. Height growth (cm) of *Brugmansia suaveolens*

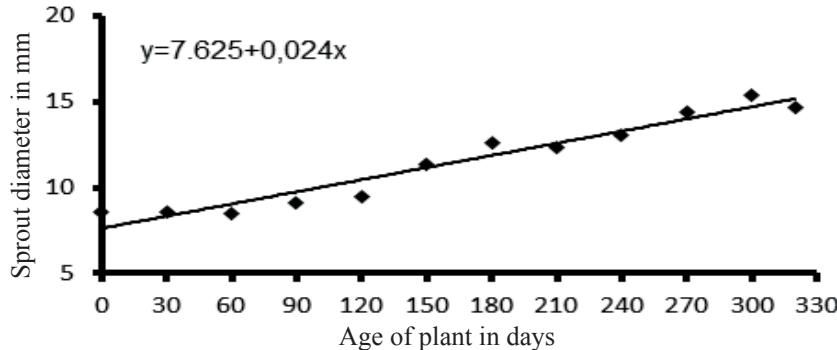


Figure 3. Growth in sprout diameter (mm)

No studies are reported about growth rates in this species. Only descriptions of height are identified in other *Brugmansia* species. Flehmig (2004) reported *B. aurea* from 5 to 10 m in height, with a radius including its branches up to 4 m; Alonso (2012), in *B. arborea* referred a height up to 4 m. Martínez and Rojo (2015) suggest that growth models applied to tree species can present great variability among individuals, when applying linear and polynomial models.

Total number of leaves per plant (table 4) showed significant differences in the periods considered. This is reported most evidently between the measures taken at 30 and 210 d. The highest proportion of yellow leaves is reached at 210 d, to decrease later. The presence of the second flowering at 240 d could have an impact on this performance.

The analysis of the theoretical assumptions showed significant values in the P value, which indicates that it does not fulfill with homogeneity of variance.

In branch length (table 5), the lateral buds begin to sprout at 100 d in 35 % of the evaluated plants. Mean length of branches ranged between 14.2 and 29.06 cm at 120 and 300 d, respectively. However, it had no

del brote (15.18 mm) se alcanzó a los 320 d (figura 3).

No se informan estudios acerca de las tasas de crecimiento en esta especie. Solo se identifican descripciones de altura en otras especies del género *Brugmansia*. Flehmig (2004) informó *B. aurea* de 5 a 10 m de altura, con radio con sus ramas de hasta 4 m; Alonso (2012) en *B. arborea* refirió altura de hasta 4 m. Martínez y Rojo (2015) plantean que los modelos de crecimiento aplicados en especies arbóreas pueden presentar gran variabilidad entre los individuos, al aplicarse modelos lineales y polinomiales.

El número total de hojas por planta (tabla 4) mostró diferencias significativas en las épocas consideradas. Esto se informa de forma más evidente entre las medidas tomadas a los 30 y 210 d. La mayor proporción de hojas amarillas se alcanza a los 210 d, para disminuir posteriormente. La presencia de la segunda floración a los 240 d pudo incidir en este comportamiento.

El análisis de los supuestos teóricos mostró valores significativos en el valor de P, lo que indica que no se cumple con la homogeneidad de la varianza.

En la longitud de ramas (tabla 5), las yemas laterales empiezan a brotar a partir de los 100 d en 35 % de las plantas evaluadas. La longitud promedio

Table 4. Total number of leaves per plant and green, yellow and dry leaves percentage of *Brugmansia suaveolens*

Days from plantation	Total number of leaves	Leaves %		
		Green	Yellow	Dry
30	2.02 ^a (5.57)	99.00	0.00	1.00
120	3.95 ^{ab} (16.43)	99.00	0.00	1.00
210	6.89 ^{bc} (77.38)	96.00	4.00	0.00
300	8.69 ^c (139.64)	97.00	3.00	0.00

Value of P= 0.0056 SE (±)=1.29

Value of P Levene Test= <0.001

() Original means. Data transformed according to \sqrt{X} . for total number of leaves

^{a, b, c} Values with common letters do not differ at P<0.05 (Duncan 1955)

Table 5. Length of branches of *B. Suaveolens*

Days from plantation	Mean length of branches. cm
120	14.20
210	20.17
300	29.06

Values of P =0.3825 EE (±)=6.64

differences regarding plant age.

Conclusions

In the characteristics of propagation, it was evidenced that cuttings extracted from the basal section presented better characteristics in the propagation. Better results were obtained in the days of callus generation and plant height, at 30 and 45 d, regardless of the application or not of hormones.

The final establishment percentage reached 33 %, without any difference between the stem sections and NAA concentrations.

Results showed that mathematical models to describe the initial growth showed that *B. Suaveolens* grew during the first 320 d after planting. Quadratic and linear models were chosen to describe growth performance in the height measurements of the plant and stem diameter.

The number of leaves showed significant differences among sampling times, being more noticeable between the periods of 30 and 210 d.

Emission and growth of branches and the appearance of flowers were also important elements of growth. In this sense, in *B. Suaveolens*, the presence of seasonal flowering was identified, which affects plant development.

Cuban Journal of Agricultural Science, Volume 51, Number 3, 2017.

de las ramas osciló entre 14.2 y 29.06 cm a los 120 y 300 d, respectivamente. Pero no presentó diferencias con respecto a la edad de la planta.

Conclusiones

En las características de propagación, se evidenció que las estacas extraídas de la sección basal presentaron mejores características en la propagación. Se obtuvieron mejores resultados en las medidas de días a la generación del callo y altura de la planta, a los 30 y 45 d, independientemente de la aplicación o no de hormonas.

El porcentaje final de prendimiento alcanzó 33 %, sin que exista diferencia entre las secciones del tallo y concentraciones de ANA utilizadas.

Los resultados evidenciaron que los modelos matemáticos para describir el crecimiento inicial demostraron que *B. Suaveolens* creció durante los primeros 320 d posteriores a la plantación. Se escogieron los modelos cuadrático y lineal para describir los comportamientos de crecimiento en las medidas altura de la planta y diámetro del tallo.

El número de hojas presentó diferencias significativas entre los tiempos de muestreo, siendo más notorias entre los períodos de 30 y 210 d.

La emisión y crecimiento de ramas y la aparición de la floración fueron también elementos importantes del crecimiento. En este sentido, en *B. Suaveolens*, se identificó la presencia de floración estacional, lo que incide en el desarrollo de la planta.

References

- Abril, R. V., Ruiz, T., Alonso, J. & Cabrera, G. 2017. "Initial growth of *Mansoa alliacea* (Bignoniacae), species of interest in the Amazon region of Ecuador". Cuban Journal of Agricultural Science, 50(4): 673–682, ISSN: 2079-3480, Available: <<http://www.cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/670>>, [Consulted: June 16, 2017].
- Alonso, J. L. B. 2012. Flora ornamental española: aspectos históricos y principales especies. (ser. Monografías de Bouteloua), vol. 8, José Luis Benito Alonso, 274 p., ISBN: 978-84-937528-1-1, Google-Books-ID: R5NNGAnk2wIC, Available: <http://www.ciencias-marinas.uvigo.es/bibliografía_ambiental/plantas/Flora_ornamental_española.pdf>, [Consulted: June 16, 2017].
- Bedoya, J. G., Bernal, M. E. & Castaño, É. 2009. "Descripción de relaciones ecológicas de *Brugmansia aurea* con plantas, insectos y hongos en Manizales y Villamaría". Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural, 13(2): 26–39, ISSN: 0123-3068, Available: <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0123-30682009000200003&lng=en&nrm=iso&tlang=es>, [Consulted: December 16, 2017].
- Bonfil, C., Mendoza, P. & Ulloa, J. 2007. "Enraizamiento y formación de callos en estacas de siete especies del género bursera". Agrociencia, 41(1): 103–109, ISSN: 1405-3195.
- Castelblanco, L., Sanabria, O. J., Cruz, A. & Rodríguez, C. E. 2013. "Reporte preliminar del efecto ixodicida de extractos de algunas plantas sobre garrapatas *Boophilus microplus*". Revista Cubana de Plantas Medicinales, 18(1): 118–130, ISSN: 1028-4796.
- Cuevas, J. 2014. Propagación vegetativa de *Pinus leiophylla* P Schiede Ex Schltdl. Et Cham. M.Sc. Thesis, Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Montesillo, México, 84 p.
- de Feo, V. 2004. "The ritual use of Brugmansia species in traditional Andean medicine in Northern Peru". Economic Botany, 58(1): 221–229, ISSN: 0013-0001, 1874-9364, DOI: 10.1663/0013-0001(2004)58[S221:TRUOBS]2.0.CO;2, Available: <[http://link.springer.com/article/10.1663/0013-0001\(2004\)58\[S221:TRUOBS\]2.0.CO;2](http://link.springer.com/article/10.1663/0013-0001(2004)58[S221:TRUOBS]2.0.CO;2)>, [Consulted: January 6, 2017].
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M. & Robledo, C. W. 2014. InfoStat. version 2014, [Windows], Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat, Available: <<http://www.infostat.com.ar/>>.
- Díaz, A., Torres, V., Herrera, S., Fernández, L. & Sarduy, L. 2014. "Modelación del crecimiento de bovinos en pastoreo con gramíneas y leguminosas". Zootecnia Tropical, 32(4): 363–376, ISSN: 0798-7269, Available: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0798-72692014000400007&lng=es&nrm=iso&tlang=es>, [Consulted: February 2, 2017].
- Duncan, D. B. 1955. "Multiple Range and Multiple F Tests". Biometrics, 11(1): 1–42, ISSN: 0006-341X, DOI: 10.2307/3001478, Available: <<http://www.jstor.org/stable/3001478>>, [Consulted: April 4, 2015].
- Flehmig, A. 2004. La poda. Barcelona, España: Hisano Europea, 67 p., ISBN: 978-84-255-1544-6, Google-Books-ID:

- kayo21rYtdoC, Available: <<https://books.google.es/books?id=kayo21rYtdoC>>, [Consulted: January16, 2017].
- González, D., Ruiz, T. E. & Díaz, H. 2013. "Sección del tallo y forma de plantación: su efecto en la producción de biomasa de *Tithonia diversifolia*". Cuban Journal of Agricultural Science, 14(4): 425–429, ISSN: 2079-3480.
- Hartmann, H., Kester, F., Davies, F. & Geneve, R. 2014. Hartmann and Kester's plant propagation: principles and practices. 8th ed., Delhi: Pearson Prentice Hall, 877 p., ISBN: 978-81-203-5024-3.
- Herrera, M. 2013. Métodos estadísticos alternativos de análisis con variables discretas y categóricas en investigaciones agropecuarias. Ph.D. Thesis, Instituto de Ciencia Animal - Universidad Agraria de La Habana, Mayabeque, Cuba, 100 p., Available: <[https://studylib.es/doc/2964487/métodos-estadísticos-alternativos-de-análisis-con-variabl](https://studylib.es/doc/2964487/m%C3%A9todos-estad%C3%ADsticos-alternativos-de-an%C3%A1lisis-con-variabl)>, [Consulted: January16, 2017].
- Jordán, M. & Casaretto, J. 2006. "Hormonas y reguladores de crecimiento: auxinas, Giberelinas y citocininas". In: Squeo, F. & Cardemil, L. (eds.), Fisiología Vegetal, La Serena: Universidad de la Serena, pp. 1–28, Available: <[http://www.biouls.cl/librofv/web/pdf_word/Capítulo%2015.pdf](http://www.biouls.cl/librofv/web/pdf_word/Capitulo%2015.pdf)>, [Consulted: January 16, 2017].
- Lira, H. 2013. "Crecimiento, desarrollo y acción de las hormonas en las plantas". In: Fisiología Vegetal, México: Trillas, pp. 200–201, ISBN: 968-24-8004-3.
- Martínez, N. & Rojo, G. 2015. "Modelación de la estructura de covarianza entre observaciones de un mismo individuo en modelos de curvas de crecimiento arbóreo de mezquite (*Prosopis laevigata* humb & bonpl. ex willd.) en la comunidad campesinas de Chinobampo, el Fuerte, Sinaloa". Ra Ximhai, 11(5): 223–235, ISSN: 1665-0441.
- Missouri Botanical Garden. 2016. *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H. Gentry. Catálogo. Available: <<http://www.tropicos.org/Name/3701394>>, [Consulted: May 6, 2016].
- Montanucci, A., Furlan, F., Neiverth, A., Neiverth, W., Zadinelo, I. & Sereniskiv, R. 2012. "Evaluation of seed germination and plant regeneration in *Brugmansia suaveolens* a tropane alkaloid producer plant". International Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 2(3): 396–405, ISSN: 2249-4340.
- Rivera, M., Vargas, J., López, J., Villegas, A. & Jiménez, M. 2016. "Enraizamiento de estacas de *Pinus patula*". Revista Fitotecnia Mexicana, 39(4): 385–392, ISSN: 0187-7380.
- Rodríguez, L. 2015. Modelación y simulación de la producción de biomasa de *Pennisetum purpureum* Schumvc. kinggrass y su aplicación en la alimentación animal. Ph.D. Thesis, Instituto de Ciencia Animal - Universidad Agraria de La Habana, Mayabeque, Cuba, 100 p.
- Rodríguez, W. & Leihner, D. 2005. Análisis Del Crecimiento Vegetal. vol. 7, Costa Rica: Editorial Universidad de Costa Rica, 58 p., ISBN: 978-9968-936-10-1, Google-Books-ID: 69570TbkSxwC, Available: <<https://books.google.com.cu/books?id=69570TbkSxwC>>, [Consulted: February 2, 2017].
- Ruiz, R., Vargas, J., Cetina, M. & Villegas, A. 2005. "Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb". Revista Fitotecnia Mexicana, 28(4): 318–326, ISSN: 0187-7380.
- Solís, C., Jiménez, V. & Arias, J. 2015. "Propagación asexual de azul de mata (*Justicia tinctoria* (Oerst.) D. N. Gibson, Fam. Acanthaceae) por medio de estacas". Agronomía Costarricense, 39(2): 91–103, ISSN: 0377-9424.
- Statistical Graphics Corp 2014. Statgraphics Centurion. (ser. Profesional), version 16.2.04, [Windows], Available: <<http://www.statgraphics.com/statgraphics/statgraphics.nsf/pd/pdpricing>>.
- Systat Software Inc. 2002. Table Curve 2D. version 5.01, [Windows 7], 100 C o FORTRAN, Krakow Poland, Available: <<http://www.sigmaplot.co.uk/products/tablecurve2d/tablecurve2d.php>>.
- Vásquez, A., Alegria, W. & Tello, R. 2011. "Propagación vegetativa de *Swietenia macrophylla* (caoba) mediante enraizamiento de estaquillas juveniles en cámaras de subirrigación, en Pucallpa, Perú". Conocimiento amazónico, 2(1): 33–44, ISSN: 2221-3376.
- Vilches, J., Martínez, L. & Albany, N. 2015. "Comparación del crecimiento en vivero entre plántulas y vitroplantas de guayabo cultivar enana roja cubana Eea-1840". Interciencia, 40(4): 270–274, ISSN: 0378-1844.

Received: March 12, 2017