

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

IMPORTANCIA Y DESAFÍOS DE LA CONSERVACIÓN DE *Vanilla* spp. (ORQUIDACEAE) EN COSTA RICA¹

José Bernal Azofeifa-Bolaños², Amelia Paniagua-Vásquez², José Antonio García-García³

RESUMEN

Importancia y desafíos de la conservación de *Vanilla* spp. (Orchidaceae) en Costa Rica. El objetivo de este trabajo fue describir la importancia y los principales retos del uso, manejo y conservación del género *Vanilla* en Costa Rica. Los temas tratados fueron: taxonomía en el país y a nivel mundial, datos sobre recolección y nuevas estimaciones de parientes silvestres, la importancia económica, ecológica y social, el acervo genético de las especies costarricenses, la situación del cultivo a nivel mundial (área cosechada, producción, rendimiento, principales países productores), causas que disminuyen el potencial productivo de las especies, los métodos de cultivo, la posibilidad de extinción de *Vanilla planifolia* y el potencial genético existente en el país respecto a la concentración de vainillina. Se expone una estrategia integral de conservación que pretende perpetuar los recursos fitogenéticos de vainilla en bancos de germoplasma a través de un sistema formal de producción de semillas, para su utilización ulterior con fines de mejoramiento, investigación y producción comercial. Además, mediante un uso sustentable se protegerán las especies y variedades costarricenses. Las personas, físicas o jurídicas, que utilicen dicho material deberán generar a los proveedores beneficios monetarios, o no monetarios, por el uso de los recursos a través de un sistema justo y equitativo. Las condiciones agroecológicas de Costa Rica así como el material genético de vainilla tanto silvestre como cultivado abren la posibilidad de desarrollar modelos productivos basados en la agricultura orgánica.

Palabras clave: *Vanilla planifolia*, especies silvestres de vainilla, contenidos de vainillina, especies comerciales de vainilla.

ABSTRACT

Importance and conservation challenges of *Vanilla* spp. (Orchidaceae) in Costa Rica. The aim of this work was to describe the importance and the main challenges for the use, management and conservation of the *Vanilla* genus in Costa Rica. Topics covered in this study were: taxonomy in the country and worldwide, data collection and new estimates of wild relatives, the economic, ecological and social importance, the gene pool of the Costa Rican species, the crop situation worldwide (harvested area, production, yield, major producers), causes that reduce the productive potential of the species, culture methods, the vulnerability of *Vanilla planifolia* to extinction, and the genetic potential in the country with respect to the concentration of vanillin. The comprehensive conservation strategy proposed in this paper aims to perpetuate vanilla plant genetic resources in gene banks through a formal system of seed production, for further use for breeding, research and commercial production. Through sustainable use, those species will be protected in Costa Rica. The natural or legal persons who use such materials must generate monetary or non-monetary benefits from the use of resources through a fair and equitable system to the suppliers. Agro-ecological conditions of Costa Rica as well as the genetic material of both wild and cultivated vanilla opens the possibility of developing production models based on organic agriculture.

Keywords: *Vanilla planifolia*, *Vanilla* wild relatives, vanillin content, *Vanilla* commercial species.

¹ Recibido: 15 de julio, 2013. Aceptado: 18 de marzo, 2014. Este trabajo es parte de los resultados del proyecto de investigación "Ubicación, caracterización y conservación del germoplasma de vainilla presente en Costa Rica" ejecutado por la Universidad Nacional de Costa Rica (UNA) y financiado por el Consejo Nacional para Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Costa Rica (CONICIT) bajo el código FI-484-11.

² Instituto de Investigación y Servicios Forestales (INISEFOR), Universidad Nacional. 86-3000. Heredia, Costa Rica. jb12azo@gmail.com, amelia.paniagua.vasquez@una.cr

³ Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales, Escuela de Ciencias Agrarias (ECA), Universidad Nacional. 86-3000. Heredia, Costa Rica. dendrogar@yahoo.com



INTRODUCCIÓN

El género *Vanilla* Plum. ex Miller pertenece a la familia Orchidaceae, sub familia Vanilloideae, tribu Vanilleae y sub tribu Vanillinae (Gigant et al., 2011). El número de especies descritas no está definida aún. Soto y Dressler (2010) registran 107 especies; Cameron y Chase (1999), 90 especies; y The International Plant Names Index, 188 nombres de especies (Bory et al., 2008). No obstante, a pesar de estas inconsistencias, la clasificación más estudiada es la de 110 especies, propuesta por Portéres en 1954 (Besse et al., 2004; Bory et al., 2008; Bory et al., 2010; Pignal, 2010; Gigant et al. 2011). Debido a que las especies de *Vanilla* pertenecen a un género con una distribución pantropical, estas se localizan a lo largo de las partes tropicales de todos los continentes, excepto en Australia (Bory et al., 2008; Gigant et al., 2011).

Una reciente revisión de las especies reconocidas del género *Vanilla* determinó la existencia de quince especies mexicanas y centroamericanas, de las cuales en Costa Rica se han hallado doce diferentes (Soto y Dressler, 2010). Varias especies del acervo genético mexicano y centroamericano están cercanamente emparentadas con las dos especies de mayor cultivo en la zona: *V. planifolia* y *V. pompona*; lo cual representa un importante germoplasma para el cultivo (Soto y Dressler, 2010).

Según información que se generó en investigaciones relacionadas con datos de recolección y nuevas estimaciones, es probable que en Costa Rica existan parientes silvestres no descubiertos de algunas de las especies del género *Vanilla*, así como nuevas especies aún no registradas (datos no publicados⁴). Sin embargo, para corroborar esta hipótesis y lograr una identificación segura de las accesiones de campo es necesario contar con estudios de caracterización morfológicos y moleculares.

Debido a la importancia en términos ecosistémicos de *Vanilla* a nivel mundial, la existencia en el país de germoplasma de especies silvestres y cultivadas de dos de las tres especies más importantes en el mundo (*V. planifolia* y *V. pompona*), datos de contenidos de vainillina de algunas accesiones de cápsulas fermentadas

y curadas de *V. planifolia* con valores porcentuales por encima de la calidad más alta, establecida por las normas internacionales, la posibilidad de asociar cultivos de vainilla con árboles forestales genéticamente superiores y otros cultivos perennes en fincas integrales, hacen de este género de plantas una alternativa económica y ecológicamente adecuada para el modelo de desarrollo de conservación del patrimonio natural y de crecimiento económico impulsado por el gobierno de Costa Rica (MIDEPLAN, 2010).

La conservación de los recursos fitogenéticos de cultivos tropicales en bancos de germoplasma es fundamental para reducir la pérdida de diversidad genética y para conservar especies silvestres, cultivares locales tradicionales y variedades mejoradas (Sánchez-Chiang y Jiménez, 2010). Para solucionar los problemas de erosión genética de las especies de vainilla en Costa Rica, la implementación de estrategias de conservación *ex situ* (colecciones *in vitro* y jardines botánicos) se convierten en las alternativas más viables para preservar genotipos existentes de aquellas plantas propagadas principalmente de forma vegetativa y de las cuales no es tan fácil la obtención de semillas sexuales. No obstante, según Soto (1999), aunque la conservación *in situ* bajo las condiciones actuales no parece ser una estrategia viable, es necesario realizar esfuerzos para favorecer la permanencia en estado silvestre de las plantas de las especies conocidas. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue describir la importancia y los principales desafíos de conservación de *Vanilla* spp., de Costa Rica.

METODOLOGÍA

La búsqueda de documentos se realizó de agosto a diciembre de 2012. Se utilizaron las bases de datos en línea de la Universidad Nacional de Costa Rica, la colección bibliográfica del Ministerio de Agricultura y Ganadería - Sistema Unificado de Información Institucional (MAG-SUNII), así como consulta a expertos nacionales e internacionales por vía telefónica e internet. La revisión bibliográfica se basó en artículos científicos, libros, capítulos de libros, memorias de seminarios y congresos, tesis, páginas de internet y las experiencias de la Universidad Nacional en la coordinación, planeamiento y ejecución de los proyectos tales como: “Cultivo y Producción de

⁴ Datos preliminares obtenidos del proyecto “Cultivo y Producción de Vainilla Orgánica en Sistemas Agroforestales en el Asentamiento Campesino Argendora, Santa Cecilia de La Cruz, Guanacaste” coordinado por la Universidad Nacional.

Vainilla Orgánica en Sistemas Agroforestales en el Asentamiento Campesino Argendora, Santa Cecilia de La Cruz, Guanacaste” (2006-2009), “Desarrollo de Sistemas Agroforestales como alternativa de producción sostenible para pequeños y medianos productores de la zona Atlántica de Costa Rica” (2009-2011), “Mejoramiento del cultivo de vainilla (*Vanilla* spp.) por medios tradicionales y no tradicionales y su implementación en Sistemas Agroforestales” (2009-2011) y “Ubicación, caracterización y conservación del germoplasma de vainilla presente en Costa Rica” (2012-2014).

IMPORTANCIA DE *Vanilla* spp.

Solamente existen tres especies dentro del género *Vanilla* de importancia económica a nivel mundial: *V. planifolia*, *V. tahitensis* y *V. pompona*. De estas, *V. planifolia* es la especie más importante debido a su impacto económico, ecológico y social en las regiones de producción. En primer lugar, económico, al ser la segunda especie más cara del mundo después del azafrán (Anilkumar, 2004; Giridhar y Ravishankar, 2004; Havkin-Frenkel y Belanger, 2007; Minoo et al., 2007; Hailemichael et al., 2012; Osorio, 2012), gobierna el mercado de los saborizantes de alimentos y su demanda casi sobrepasa el doble de la oferta (Anilkumar, 2004; Soto, 1999). En segundo lugar, ecológico, dado que sus parientes silvestres reflejan el estado de salud de los bosques, además, la posibilidad de ser establecida en estos y en zonas de reserva forestal, contribuyen a la conservación y valorización de los bosques y otros recursos naturales (Osorio, 2012). Y en tercer lugar, desde el punto de vista social, el cultivo de la vainilla no requiere de grandes extensiones de terreno para obtener altos ingresos económicos empleando mano de obra familiar (Ramírez et al., 1999) de escasos recursos (Osorio, 2012). Además, el beneficiado y comercialización de los frutos cosechados se puede realizar en las comunidades dando valor agregado a la cadena de producción, disminuyendo el papel de los intermediarios agrícolas e incrementando los beneficios directos para los pequeños productores (Cruz, 2004). De esta forma, la viabilidad de desarrollo del cultivo por parte de familias pequeñas y económicamente vulnerables convierten a esta especie en una alternativa de agricultura sustentable.

Vanilla planifolia es cultivada comercialmente por sus frutos (cápsulas) de los cuales se extrae la sustancia aromatizante y saborizante llamada vainillina (George y Ravishankar, 1997; Geetha y Shetty, 2000; Giridhar y Ravishankar, 2004; Pak et al., 2004; Kalimuthu et al., 2006; Havkin-Frenkel y Belanger, 2007; Janarthanam y Seshadri, 2008; Chandran y Puthur, 2009; González-Arno et al., 2009; Tan et al., 2010; Hailemichael et al., 2012). De los más de 250 compuestos diferentes aislados de los frutos de *V. planifolia*, la vainillina es el componente principal de las cápsulas fermentadas y es el sabor más ampliamente distribuido en el mundo (Pak et al., 2004; Havkin-Frenkel y Belanger, 2007).

Las especies *Vanilla planifolia*, *V. tahitensis* y *V. pompona* son las únicas fuentes de vainillina natural en el mundo, sin embargo el 95% de la producción mundial se obtiene de los frutos procesados de *V. planifolia* (Divakaran et al., 2006; Bory et al., 2008; Lubinsky et al., 2008; Sujatha y Bhat, 2010). *V. tahitensis* y *V. pompona* son cultivadas en menor escala (Soto, 2006; Soto y Dressler, 2010).

Vanilla pompona es la especie más resistente a los principales patógenos, pero las cápsulas son de una calidad inferior (Korthou y Verpoorte, 2007). Sin embargo, recientes investigaciones concluyeron que frutos de parientes silvestres de *V. pompona* de la región de Madre de Dios, Perú, contienen altos contenidos de vainillina (5,7/100 g) y otros compuestos de importancia química, lo cual evidencia la importancia de ese germoplasma para el mejoramiento de cultivares de *Vanilla* en el mundo (Maruenda et al., 2013).

V. tahitensis, cultivada principalmente en Tahití, presenta un sabor único como resultado de la composición específica del aroma de las cápsulas verdes combinado con los ancestrales métodos polinésicos de fermentación y curado (Brunschwig et al., 2012). Se cree que es un híbrido artificial, y dadas sus características únicas, las cápsulas son más caras que las de *V. planifolia* (Korthou y Verpoorte, 2007).

V. phaeantha, especie cercanamente emparentada con *V. planifolia*, es más resistente al ataque de *Fusarium oxysporum*, por lo cual puede ser establecida en sitios más secos y en suelos estacionalmente inundados (Soto, 1999).

La especie *V. odorata* es después de *V. planifolia* la que genera frutos más fragantes, pero a diferencia de esta última, puede establecerse en la vegetación

secundaria, y tolera mucho mejor los cambios de las condiciones del proceso de sucesión, muestra mayor resistencia a sequías, a la alta insolación, sombra excesiva y al menor ataque de plagas. Sin embargo, a pesar de la importancia en fitomejoramiento de *Vanilla* spp, la investigación es escasa (Soto, 1999).

A excepción de *V. planifolia*, el germoplasma de las vainillas registradas en Costa Rica, representadas por las especies *V. calyculata*, *V. costaricensis*, *V. dressleri*, *V. hartii*, *V. helleri*, *V. inodora*, *V. odorata*, *V. phaeantha*, *V. pompona*, *V. sarapiquensis* y *V. trigonocarpa* (Soto y Dressler, 2010), no refleja importancia en términos económicos, no obstante, representan el acervo genético secundario de *V. planifolia*. Bory et al. (2008) argumentaron la importancia de conservar el acervo genético secundario de *V. planifolia*, pues este constituye una importante fuente de caracteres de importancia en fitomejoramiento.

A nivel biológico y comercial los parientes silvestres y las especies cultivadas de *Vanilla* spp., de Costa Rica, representan un invaluable reservorio de variación genética a nivel mundial, sin embargo, la información disponible sobre las características fitoquímicas y genéticas que definen la calidad aromática de cada especie es nula. Circunstancias muy similares son descritas por investigadores mexicanos relacionadas con el desconocimiento real del germoplasma de *V. planifolia* existente en la región de Totonacapan, Veracruz (Herrera-Cabrera et al., 2012) y otras regiones productoras de México (Castillo y Engleman, 1993). La situación es preocupante cuando muchos autores afirman que *V. planifolia* es originaria de México (Soto, 1999; Havkin-Frenkel y Belanger, 2007; Castro, 2008; Barrera-Rodríguez et al., 2009; Gonzalez-Arno et al., 2009; Gigant et al., 2011; Salazar-Rojas et al., 2011; Tapia, 2011; Kelso-Bucio et al., 2012), y que a pesar de contar con gran diversidad genética para hacer fitomejoramiento, el mercado de la vainilla mexicana representa menos de un 1% de la producción mundial (Soto, 2006, Barrera-Rodríguez et al., 2009; Salazar-Rojas, 2011; Herrera-Cabrera et al., 2012).

En Costa Rica existen vacíos de información respecto al uso, manejo y conservación de la diversidad genética de las especies del género *Vanilla*. La poca información disponible hace referencia exclusiva a *V. planifolia* en temas generales y de diagnóstico sobre el cultivo de la vainilla (Cordero et al., 1984; Hernández, 1995), cultivo de tejidos (González, 2003; Acuña,

2009), análisis económicos y financieros (Barrantes, 1988), mercado de la vainilla (Arias, 1987; Arias, 1990), enfermedades de la vainilla (Miranda, 1995; Rivera, 1995; Rivera, 1996; Ramírez et al., 1999) y vainilla en asocio con Sistemas Agroforestales (Paniagua y García, 2009).

Situación del cultivo de la vainilla a nivel mundial: área cosechada, producción, rendimiento y principales países productores

A pesar de la importancia mundial del género *Vanilla*, la situación actual no es tan alentadora en relación con el cultivo de vainilla (*V. planifolia*, *V. pompona* y *V. tahitensis*). Según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), a pesar del incremento mundial del área cosechada de vainilla (de 16 483 ha en 1961 a 72 512 ha en 2010) y de la producción (de 1380 toneladas en 1961 a 6680 toneladas en 2010), el rendimiento medido por los kilogramos de producto por hectárea (kg/ha) es muy irregular y muestra una tendencia a la baja (FAO STAT, 2012).

Durante las décadas de 1960 y 1970, la producción a nivel mundial logró un incremento en el rendimiento de vainilla por hectárea en las regiones productoras, logrando de esta forma valores promedio de hasta 199,3 kg/ha en 1975. A pesar de ello, luego de ese periodo, los “vainillales” no han logrado superar los 133,4 kg/ha obtenidos en el año 2002, ni los 110 kg/ha reportados por Sujatha y Bhat (2010) para el 2008; y según el último registro de la FAO sobre el rendimiento mundial para el 2010, solamente se obtuvo 92 kg/ha (FAO STAT, 2012). Desde un enfoque muy general, es evidente que algo está pasando en las regiones productoras donde quizá hay deficiencias en técnicas de producción y se requiera hacer un mejor uso del germoplasma disponible antes de que este se pierda por erosión genética.

Varios países en vías de desarrollo son los principales productores de vainilla, ejemplo de esto son: Madagascar, Islas Comoro, Islas Reunión (Anilkumar, 2004; Minoo et al., 2007; Medina et al., 2009; Sujatha y Bhat, 2010; Sasikumar, 2010), México (Anilkumar, 2004; Minoo et al., 2007, Sasikumar, 2010, Sujatha y Bhat, 2010) Indonesia (Minoo et al., 2007; Medina et al., 2009; Sasikumar, 2010; Sujatha y Bhat, 2010), Uganda, Java, Filipinas, Papúa Nueva Guinea, Fiji,

Jamaica, Costa Rica, India (Anilkumar, 2004; Sasikumar, 2010; Sujatha y Bhat, 2010), Polinesia Francesa, Malawi, Zimbawe (Sasikumar, 2010), China, Guadalupe, Tonga (Medina et al., 2009; Sasikumar, 2010), Turquía (Medina et al., 2009). Esto evidencia la necesidad de generar tecnologías acordes con la realidad de esos países, con miras a incrementar la producción y la calidad del producto final. En este sentido, se abre una posibilidad para Costa Rica donde se cuenta con el material genético y el recurso humano para emprender esta tarea con el objetivo de desarrollar modelos productivos basados en la agricultura orgánica.

Entre los consumidores mundiales de vainilla destacan los Estados Unidos, como el principal demandante, seguido de Alemania, Francia, Canadá, Australia y Japón (Anilkumar, 2004; Sujatha y Bhat, 2010). El mercado internacional de este producto está insatisfecho, pues a pesar de la elevada demanda, la oferta apenas llega a cubrir la mitad de las necesidades mundiales (Soto, 1999). Inclusive datos más recientes indican que la oferta mundial solamente puede abastecer el 6,25 y 11,5% de la demanda internacional (Salazar-Rojas, 2011).

PRINCIPALES CAUSAS RELACIONADAS CON LA DISMINUCIÓN DEL POTENCIAL PRODUCTIVO DE *Vanilla* spp., A NIVEL MUNDIAL Y LOCAL

Los datos sobre la producción de vainilla a nivel mundial durante el periodo de 1961-2010, reflejaron inadecuados usos y manejos del cultivo, lo cual ocasionó una disminución notable del rendimiento en las áreas productoras.

Algunos de los principales factores restrictivos de la disminución del rendimiento en el mundo son: carencia de conocimiento de la variación genética del germoplasma de *Vanilla* spp. (Gigant et al., 2011; Herrera-Cabrera et al., 2012), lo cual provoca una subutilización del material genético y problemas de calidad en el producto final, falta de estudios genéticos de la biodiversidad de especies de *Vanilla* silvestres (Gigant et al., 2011), erosión genética de las poblaciones silvestres (Soto, 1999; Divakaran et al., 2006; Schlüter et al., 2007; Bory et al., 2008; Divakaran y

Babu, 2009; Herrera-Cabrera et al., 2012) y cultivadas (Herrera-Cabrera et al., 2012) debido a una colecta excesiva y sin manejo, deforestación (Divakaran et al., 2006; Schlüter et al., 2007; Bory et al., 2008; Divakaran y Babu 2009), propagación clonal extensa en las plantaciones (Soto, 1999; Schlüter et al., 2007). Además pobres manejos del cultivo ocasionan la pérdida de material genético valioso (Soto, 1999; Bory et al., 2008), presión de selección sobre la especie *V. planifolia*, destrucción de hábitats por causas humanas y meteorológicas, carencia de cultivares mejorados de las especies económicamente importantes, problemas fitosanitarios en monocultivos y cambios climáticos (Divakaran et al., 2006).

En México, las plantaciones son rústicas y con producciones muy bajas, si se compara con las que se obtendrían con plantaciones modernas y tecnificadas (Soto, 2006). En Costa Rica, la situación es muy similar, las tecnologías utilizadas para el crecimiento de la vainilla son de carácter tradicional, lo cual ha generado rendimientos bajos y altos costos de producción. Las principales causas de tal problema son: cosechas pobres, carencia de cultivares mejorados, irregularidad en la siembra, problemas fitosanitarios, sitios de siembra no adecuados, carencia de capacitación oportuna y de calidad (Acuña, 2009).

Es imperante tomar medidas a corto plazo para disminuir la pérdida acelerada del acervo genético primario del género *Vanilla* a nivel mundial. El manejo sustentable y la conservación se convierten en las estrategias más adecuadas para preservar las especies del género. No obstante, si no hay estrategias de conservación global (Bory et al., 2008) y acciones conjuntas a nivel nacional, regional y mundial, los esfuerzos serán aislados.

En Costa Rica, para cultivar vainilla y perpetuar sustentablemente la especie, se necesita conocer el estado actual de la diversidad genética de las especies silvestres y cultivadas. Solamente de esta forma se puede empezar un programa integral de conservación y uso sustentable del recurso. En este sentido, la experiencia que acumuló la Universidad Nacional de Costa Rica durante la última década en misiones de colecta y trabajos de extensión con las comunidades, originó en el 2012, la primera fase de la propuesta de conservación del género *Vanilla* en el país, financiada por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT), la cual pretende coleccionar,

caracterizar morfológicamente y conservar la mayor cantidad de accesiones de las especies del género en el primer banco de germoplasma de *Vanilla* spp. A finales de los ochenta y principios de los noventa Costa Rica tuvo la colección más importante de germoplasma de *V. planifolia* en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) (Astorga, comunicación personal, 2013).

MÉTODOS DE CULTIVO

La propagación vegetativa de vainilla se realiza normalmente mediante esquejes. Por lo general, las plantaciones son establecidas por cientos de plantas procedentes de un pequeño número de clones, con una limitada diversidad genética (Schlüter y Harris, 2007).

En Costa Rica, la reproducción vegetativa mediante esquejes naturales es el modo de reproducción más utilizado para el establecimiento de plantaciones de vainilla, seguido de las establecidas con plantas provenientes de cultivo *in vitro*. Las plantas procedentes de semillas sexuales no son frecuentes, debido a que estas usualmente no germinan, por tal motivo, tradicionalmente las plantas se propagan por medios vegetativos a través de técnicas de macropropagación, lo cual resulta en tasas bajas de multiplicación (Palama *et al.*, 2010).

Las principales formas de cultivo en el país son:

- **En áreas forestales:** algunos lo llaman cultivo extensivo en la maleza o tradicional. Se refiere a un sistema natural donde el dosel y la caída de hojas, controlan de forma natural la sombra necesaria para el crecimiento óptimo de la especie, aportando la materia orgánica requerida para la fertilización natural del ecosistema. En el caso de vainilla, Cruz (2004) recomienda un contenido aproximado de materia orgánica de 20% con una capa de restos vegetales sobre el suelo.
- **En viveros e invernaderos:** consiste en un cultivo intensivo bajo sombra, donde se pueden utilizar soportes artificiales o naturales.
- **En tutores naturales:** se define como un cultivo semi intensivo donde los tutores, generalmente, forman parte de un diseño experimental, asociados con especies arbóreas de alto valor (Sistemas Agroforestales). La selección de tutores se debe hacer meticulosamente y brindarles los cuidados

necesarios para su crecimiento durante la preparación del terreno de cultivo, estos son tan importantes como la misma planta de vainilla y deben de cumplir con dos funciones principales: sostener la planta y proporcionarle sombra (Elorza *et al.*, 2007). Se recomienda que los tutores naturales sean especies forestales leguminosas debido a la incorporación de grandes volúmenes de materia orgánica y compuestos nitrogenados al suelo. No obstante, en México los sistemas de producción más beneficiosos son aquellos en los cuales la vainilla se asocia a especies de cítricos, y se presentan niveles más altos de vainillina (Elorza *et al.*, 2007; Barrera-Rodríguez *et al.*, 2009; Hernández-Hernández, 2011). En Costa Rica, los métodos de cultivo más comunes son en invernaderos (intensivos) y con tutores en Sistemas Agroforestales (semi intensivo) (Paniagua y García, 2009).

PELIGRO DE EXTINCIÓN DE *Vanilla planifolia*

Independientemente de la forma de cultivo de la vainilla, la fuerte presión de selección a nivel mundial sobre la especie *V. planifolia*, ha generado una disminución en la variabilidad genética, reduciendo genes de importancia agroecológica. Por tal motivo, *V. planifolia* en la actualidad se encuentra en severo peligro de extinción en la naturaleza (Soto, 2006), esto debido principalmente a la deforestación, la excesiva recolección para el establecimiento de nuevas plantaciones y a un pobre manejo del cultivo (Bory *et al.*, 2008).

La mejor forma de perpetuar los recursos genéticos de *V. planifolia* sería conservar su hábitat natural; sin embargo, muchos de estos sitios están fragmentados, alterados y generalmente asociados a zonas de alta población (Soto, 1999).

Se desconoce el estado actual de conservación de las otras dos especies de importancia económica, *V. pompona* y *V. tahitensis*. Al ser especies de importancia mundial por algunos de los componentes aromáticos de sus cápsulas fermentadas y por formar parte del acervo genético secundario de *V. planifolia*, es importante establecer una estrategia de conservación *ex situ*, para preservar los recursos genéticos de vainilla. El establecimiento de un banco de germoplasma en campo o *in vitro* es esencial para perpetuar los genotipos

existentes y optimar los programas de mejoramiento y producción (Bory *et al.*, 2008).

En el mundo se han establecido varias colecciones de germoplasma, aunque muy pocos programas de fitomejoramiento intensivos en *Vanilla* spp. Las razones principales de esta situación son: ausencia de una taxonomía confiable y de un marco de referencia filogenético, utilización de especies poco o distantemente relacionadas en los programas de entrecruzamiento, lo cual ha generado plantas híbridas con frutos sin cualidades aromáticas especiales para el mercado (Soto, 2009).

El primer programa de mejoramiento en *Vanilla* spp., se registró en Madagascar, el cual fue liderado por el Instituto de Investigaciones Agronómicas de Madagascar (IRAM) y el Instituto de Investigaciones Tropicales (IRAT) durante el periodo 1950-1980. Esta colección en 1974 tuvo aproximadamente 100 especies. Sin embargo, para finales de los noventa solo quedaron 22 especies y 250 híbridos como resultado de programas formales de mejoramiento. Hoy en día, esa colección está abandonada (Bory *et al.*, 2008). Luego, Weiss (2002) informó la existencia de dos colecciones de germoplasma de las cuales la más importante se ubicó en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Costa Rica, y la segunda en el Instituto Indio de Investigación de Especies (IISR), India. Posteriormente, se han creado otras colecciones en otras partes del mundo, ejemplo de esto son las conservadas en New Jersey, Estados Unidos, las cuales fueron el resultado de programas de bioprospección de vainillas silvestres mexicanas; así como el establecimiento de varios jardines botánicos con especies de vainilla en invernaderos en Francia (Montpellier, Lyon, Paris), Dinamarca (Copenhague), Madagascar (Antananarivo), Inglaterra (Londres), Polinesia Francesa (Uturoa), Fiji; Islas Reunión; México (Veracruz) (Bory *et al.*, 2008) y recientemente en Costa Rica (Heredia).

COMPETITIVIDAD DE LA VAINILLA DE COSTA RICA EN EL MERCADO MUNDIAL

Se debe aprovechar la diversidad de especies y subespecies del género *Vanilla* con que cuenta el país para hacer fitomejoramiento. Según Soto (2006), no

existe en ninguna parte del mundo un proyecto serio para la obtención de híbridos y de líneas mejoradas.

En Costa Rica, algunas accesiones de germoplasma de vainilla sin ningún tratamiento de beneficiado, han mostrado diversidad en las concentraciones de vainillina en sus frutos fermentados, detectándose inclusive valores de 1,58, 3,13, 3,43 y 6,10% (datos preliminares⁵). Lo anterior es una evidencia del potencial genético existente en el país, en especial si se toma en cuenta que los valores en la vainilla de calidad de Tahití empiezan a partir de 1,5%, la mexicana de aroma fino a partir de 1,8%, la gourmet de Bourbon a partir de 2,9% y la de Indonesia de aroma fuerte a partir de 2,7% (Medina *et al.*, 2009). Los datos preliminares antes señalados, justifican el rescate y conservación del germoplasma de *V. planifolia*, con el fin de incorporar estos genes de interés en material genético de uso comercial.

Bajo este panorama, el cultivo de vainilla se convierte en una alternativa altamente competitiva y sustentable. Pero, para poder lograr una domesticación exitosa se requiere de iniciativas interdisciplinarias e interinstitucionales, comprometidas con el cultivo y con las personas asociadas a ello. Domesticación que según Soto (2009) no puede considerarse en *V. planifolia*, inclusive para las especies mexicanas, pues no ha existido un programa de selección o fitomejoramiento. Por tal motivo, las especies cultivadas continúan siendo muy similares a las plantas silvestres. Se requiere un intenso trabajo de selección, mejoramiento y conservación de los recursos genéticos para tratar de superar la estrecha base genética de este cultivo propagado vegetativamente, lo cual requiere de mucho tiempo, grandes esfuerzos económicos y de recurso humano calificado (Divakaran, 2006).

Aún así, el conocimiento que se generó en Costa Rica durante los últimos años sobre el manejo, uso y conservación de *Vanilla* spp., permitió que hoy en día existan experiencias exitosas de plantaciones de *V. planifolia* donde sus frutos fermentados son de una calidad tal, que superan los elevados porcentajes de vainillina de otras regiones del mundo, lo cual evidencia el compromiso y la experiencia que se adquirió por parte de las instituciones que actualmente lideran

⁵ Datos preliminares obtenidos del proyecto "Cultivo y Producción de Vainilla Orgánica en Sistemas Agroforestales en el Asentamiento Campesino Argendorá, Santa Cecilia de La Cruz, Guanacaste" coordinado por la Universidad Nacional.

la estrategia integral de conservación de vainilla: El Instituto de Investigación y Servicios Forestales (INISEFOR) y la Escuela de Ciencias Agrarias (ECA) de la Universidad Nacional de Costa Rica (UNA). Para ello, la Finca Experimental de la Universidad Nacional cuenta con un banco de germoplasma en invernadero de *Vanilla* spp., ubicado en el cantón de Heredia, en el Barrio de Santa Lucía de Barva, a 1255 msnm, a una latitud norte de 10° 01' 21,93 y una longitud oeste de 84° 06' 43,6.

Es evidente que el mercado de vainilla en Costa Rica no pretende, en una primera instancia, competir con los mayores productores mundiales. La idea es utilizar el germoplasma identificado como de mayor calidad para continuar el establecimiento de plantaciones en las regiones agroclimáticas más óptimas. De esta forma, continuar la sistematización de experiencias de este cultivo, considerada la actividad legal económicamente más provechosa del trópico cálido húmedo del mundo (Soto, 2009) y ofrecer al productor costarricense, a través de la extensión e investigación universitaria, una alternativa diferente y rentable. Además, se pretende en el corto y mediano plazo obtener

sellos de certificación orgánica asociando los cultivos de vainilla con especies forestales nativas de alto valor, básicamente darle una marca país, aumentar las preferencias y obtener un valor agregado de mercado.

ESTRATEGIA INTEGRAL DE CONSERVACIÓN DE *Vanilla* spp., EN COSTA RICA

Como parte de los desafíos para el rescate de *Vanilla* spp., de Costa Rica, esta investigación propone continuar la estrategia integral de conservación a mediano y largo plazo, la cual se inició en el 2012. Dicha iniciativa consta de varias etapas con sus respectivas actividades principales (Figura 1).

Colecta e identificación taxonómica de germoplasma de *Vanilla* spp.

Para lograr una identificación taxonómica fiable de las colectas a partir de descriptores morfológicos se deben observar variaciones de caracteres vegetativos y

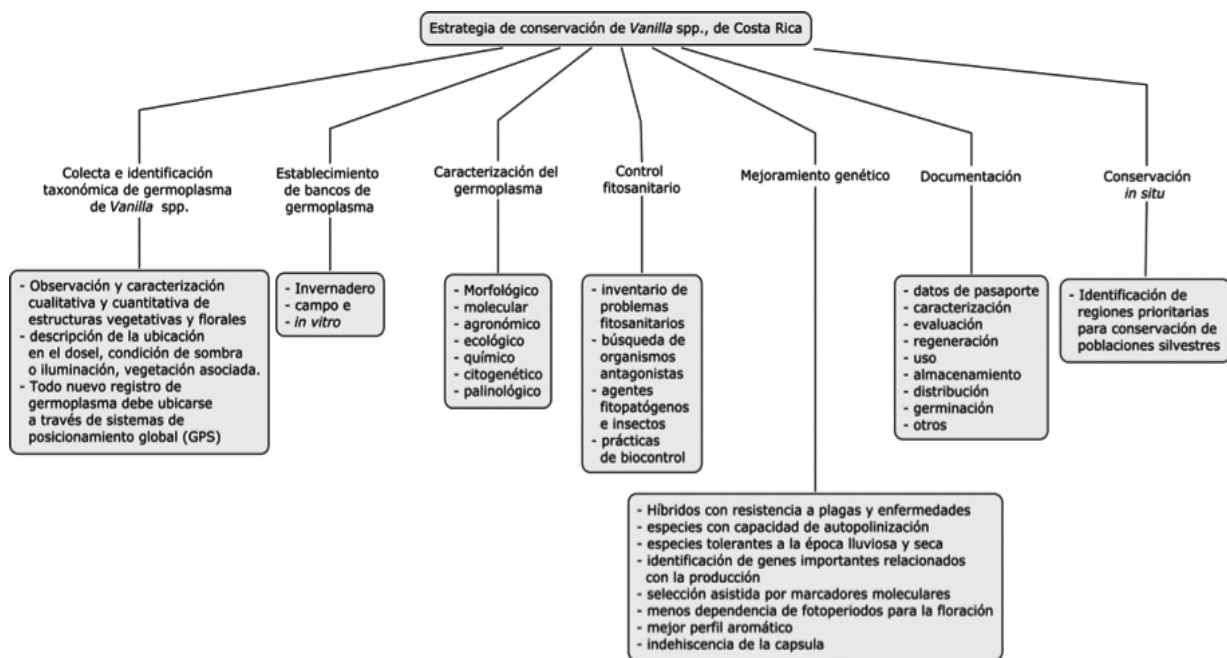


Figura 1. Etapas y actividades principales de la estrategia integral de conservación de *Vanilla* spp., de Costa Rica. 2012.

florales de las especies, lo cual en la práctica, en muchas ocasiones es casi imposible de determinar, principalmente por la característica efímera de las flores (Gigant *et al.*, 2011), bajas densidades poblacionales y floración sincrónica (Soto, 1999). Esta problemática se complica por factores de ubicación en el dosel (Acevedo *et al.*, 2001), la inaccesibilidad de muestreo en muchos sitios de colecta y factores de presupuesto lo cual restringe el número de giras de campo. Existe muy poco material disponible almacenado en los herbarios, principalmente debido a la mala preservación de las flores (Soto, 1999). Dichos factores dificultan el proceso de identificación *in situ* de la especie y subespecie. Por tal motivo, en caso de encontrarse plantas con inflorescencias en las giras de colecta se recomienda tomarse el tiempo necesario para caracterizar cualitativamente y cuantitativamente las estructuras florales, así como describir la ubicación en el dosel, la condición de sombra o iluminación y la vegetación asociada. El motivo por el cual es necesario realizar estos procedimientos radica en la rápida descomposición de la flor durante el transporte hasta el herbario, lo cual dependiendo de la lejanía, podría afectar algunas propiedades importantes de identificación taxonómica. Además, cada nuevo registro de germoplasma de vainilla colectado debe ubicarse a través de Sistemas de Posicionamiento Global (GPS).

Para resolver los problemas taxonómicos y caracterizar los genotipos de vainilla en este estudio, se recomienda colectar uno o varios esquejes de la muestra (sin comprometer la supervivencia de las plantas), y luego trasladar el material vegetal a invernaderos acondicionados para simular las condiciones óptimas de crecimiento de *Vanilla* spp. (26-28°C, humedad >80%). Una vez establecidas las plantas en el invernadero se debe monitorear la supervivencia, los problemas fitosanitarios que comprometen los objetivos de conservación y esperar hasta que la planta comience a florecer. Posteriormente, se identifica el material con ayuda de las claves taxonómicas descritas para vainilla (Soto y Dressler, 2003; Soto y Cribb, 2010; Soto y Dressler, 2010) por parte de taxónomos expertos y muestras de herbarios. Otra manera de identificar las accesiones de germoplasma provenientes de campo es mediante análisis moleculares, para luego comparar los resultados con las bases de datos de los perfiles genéticos existentes del género. Sin embargo, con excepción del trabajo realizado por Montoya (2010) sobre

las diferencias en los perfiles genéticos de diferentes genotipos de vainilla utilizando marcadores moleculares, la información sobre la variabilidad genética a nivel molecular de las especies de Costa Rica es nula o casi nula. Por lo tanto, se necesita realizar un esfuerzo notable en estudios sobre filogenética molecular para revisar la taxonomía del género, con la finalidad de identificar de forma rutinaria especímenes a nivel de especie y quizá a nivel de accesión.

Establecimiento de un Banco de Germoplasma

Por tratarse de un género donde la forma predominante de reproducción es asexual (crecimiento vegetativo), el establecimiento de bancos de germoplasma más adecuado para este género de plantas es en campo, invernadero y en condiciones *in vitro*. El establecimiento de bancos de germoplasma a partir de semillas no se recomienda debido a la germinación errática. Las semillas son muy pequeñas, presentan un embrión indiferenciado, tegumentos muy duros y cerosos que contienen inhibidores de germinación (Bory *et al.*, 2008). Por tal motivo, la importancia de una estrategia de conservación integrada de la diversidad de *Vanilla* spp., es fundamental para perpetuar de manera sustentable el género y conservar la mayor variabilidad genética posible. De esta forma, se espera ampliar la base genética del género y reducir significativamente la vulnerabilidad de extinción de algunas de sus especies.

El uso y manejo agronómico dado a las especies cultivables condicionará en buena medida el perpetuar en el corto, mediano y largo plazo genotipos valiosos, por lo cual es necesario encontrar un balance entre la agricultura moderna – cuyo enfoque exclusivamente se dirige a la obtención de la máxima ganancia en el menor tiempo posible –, con la conservación de los recursos genéticos utilizados, así como con la prevención de daños ecológicos (Baltazar, 2010).

Caracterización del germoplasma

La siguiente fase de una investigación ordenada e integral de conservación de vainilla en Costa Rica es la caracterización del material. No hay trabajos concluyentes sobre descriptores que permitan una identificación clara y correcta de las especies de vainilla dentro del género en el país. De hecho, *Vanilla* spp., es

considerado un grupo taxonómico complejo al mostrar un modo de reproducción uniparental (crecimiento vegetativo), hibridación interespecífica en áreas simpátricas y poliploidía. Estos mecanismos tienen profundos efectos sobre la organización de la diversidad biológica y se han descrito como responsables de la dificultad para definir taxones discretos, estables y coherentes (Gigant *et al.*, 2011).

La falta de incompatibilidad genética entre la mayoría de las especies de vainilla y la ocurrencia comprobada de hibridaciones interespecíficas en el género, requerirá obligatoriamente el estudio de regiones nucleares, además de marcadores de ADN cloroplástico para resolver los patrones de introgresión e identificar correctamente las especies de vainilla (Gigant *et al.*, 2011).

Se deben realizar esfuerzos en la caracterización del material a nivel morfológico, molecular (nuclear y cloroplástico), agronómico, ecológico, químico, citogenético (estimaciones de poliploidía) y palinológico. Esta caracterización permitirá conocer los descriptores morfológicos, la diversidad inter-específica de cada zona de estudio, la base genética del género, nuevas especies silvestres, variedades costarricenses, variaciones citogenéticas, mapa genético de la especie, la concentración de vainillina en frutos y otros componentes aromáticos, dehiscencia de la flor y el fruto, madurez fisiológica de la especie, aspectos de biología reproductiva (mutualismo planta-polinizador), las especies tutoras, entre otras.

Es importante explorar los sistemas reproductivos de las especies del género *Vanilla*. Para ello, la identificación y caracterización de todas las especies y subespecies de vainilla del país, como parte de la estrategia integral de conservación, permitirá generar híbridos de *V. planifolia* con especies autógamas. Las especies autógamas de *Vanilla* spp. (autopolinización), según Gigant *et al.* (2011) muestran tamaños de frutos mucho mayores que las especies de polinización cruzada. En el mercado internacional de vainilla, el tamaño de los frutos fermentados está relacionado con la vainilla más cara y de más alta calidad (Paniagua y García, 2009).

Otra investigación de gran relevancia relacionada con la biología reproductiva de las especies de vainilla, será determinar si el éxito reproductivo puede estar relacionado con el atractivo de la fragancia de las flores. La caracterización del color y la fragancia floral de las especies de vainilla, así como la identificación de sus polinizadores respectivos y su comportamiento, puede

explicar fenómenos de coevolución y entender relaciones filogenéticas relacionadas con el éxito evolutivo y reproductivo de *Vanilla* spp. (Gigant *et al.*, 2011).

Control fitosanitario

Paralelo a la caracterización del material de vainilla (silvestre y cultivado) de Costa Rica, es necesario el estudio de los distintos problemas fitosanitarios presentes en las especies. Las plagas pueden comprometer las estrategias de conservación *ex situ* de genotipos valiosos, selectos, escasos o ausentes en estado silvestre (Rivera-Coto y Corrales-Moreira, 2007). Junto con este inventario, se debe realizar una búsqueda de los organismos antagonistas, agentes fitopatógenos e insectos, con el fin de que a mediano plazo se puedan incorporar en prácticas de biocontrol como una alternativa orgánica para el manejo de las plagas y enfermedades de mayor importancia en el cultivo.

Programas de mejoramiento genético

Una vez caracterizada y establecida la colección, se espera sentar las bases para los futuros programas de mejoramiento genético (líneas de investigación científica) y las colecciones sustentables de las especies económicamente importantes para la producción comercial, lo cual permitirá el uso sustentable del recurso y perpetuar el potencial productivo de la especie.

Dado que el estrecho acervo genético primario está evidentemente amenazado, el acervo genético secundario, representado por los parientes cercanos de *V. planifolia*, es indispensable como fuente de rasgos deseables, los cuales pueden ser usados para mejoramiento. Los programas de mejora para el género *Vanilla* deben enfocarse en la búsqueda de híbridos con resistencia a plagas y enfermedades, especies con capacidad de autopolinización, tolerantes a la época lluviosa y seca, identificación de genes importantes relacionados con la producción (frutos más grandes y de mayor calidad, mayor cantidad de flores por racimo floral o inflorescencia), selección asistida por marcadores moleculares, menos dependencia de fotoperiodos para la floración, mejor perfil aromático, e indehiscencia de la cápsula (Divakaran *et al.*, 2006; Bory *et al.*, 2008). Una razón más para el establecimiento de una estrategia integral a nivel de género y no solamente a nivel de especie.

Documentación

Finalmente, es necesario la documentación de todas las fases de la estrategia de conservación integral (datos de pasaporte, caracterización, evaluación, regeneración, uso, almacenamiento, distribución, germinación, entre otros) en un sistema formal de normalización de bases de datos para lograr una gestión y funcionalidad adecuada del recurso vainilla en Costa Rica y que cualquier persona interesada en el cultivo logre tener acceso a bases de datos públicas seguras, íntegras y organizadas de los bancos de germoplasma activos existentes del género y, de esta forma, solicitar semilla para establecer cultivos con material de calidad certificada.

La finalidad es que las personas interesadas en utilizar sustentablemente los recursos naturales y que deseen cultivar vainilla -de preferencia orgánica-, encuentren en este cultivo una alternativa de producción la cual genere altos ingresos económicos sin perturbar ni ocupar grandes extensiones de terreno como lo hacen algunos monocultivos (*Musa* spp., *Ananas* sp.). No obstante, para lograr posicionar al país como pionero en investigación relacionada con aspectos biológicos, ecológicos y agronómicos de *Vanilla* spp., el primer paso es establecer una estrategia integral de conservación para la mayoría de las especies de vainilla presentes en Costa Rica: parientes silvestres y especies cultivadas. Una vez logrado el banco de germoplasma con la mayor cantidad de accesiones del género y con todos los ingresos de germoplasma caracterizados, se pretende establecer estrategias regionales de conservación, para lograr de forma más integral reducir la vulnerabilidad de extinción de muchas de sus especies.

Sin embargo, para alcanzar el manejo sustentable deseado es necesario proteger las especies y variedades costarricenses. Las personas físicas o jurídicas que utilicen dicho material deberán generar a los proveedores, beneficios monetarios o no monetarios por el uso de los recursos a través de un sistema justo y equitativo; esto con la finalidad de establecer una plataforma financiera estable para seguir investigando y generando proyectos científicos para apoyar el sector agroforestal en la búsqueda de alternativas ambientalmente convenientes con apoyo al sector social. Las condiciones agroecológicas de Costa Rica así como el material genético de vainilla, abre la posibilidad de desarrollar modelos productivos basados en la agricul-

tura orgánica y en el mediano y largo plazo el país se podría convertir en un potencial exportador de vainilla a nivel mundial.

Conservación *in situ*

De forma indirecta, una caracterización exitosa permitirá formular estrategias de conservación *in situ* (monitoreo de poblaciones silvestres), identificando sitios de alta prioridad para las poblaciones silvestres que actualmente no se encuentran protegidos en áreas de conservación como parques nacionales, sitios patrimonio de la humanidad, áreas silvestres protegidas, refugios de vida silvestre, reservas forestales y biológicas. De manera integral y anexo se puede llevar a cabo un estudio de modelaje de predicción para evaluar y determinar regiones prioritarias para una conservación *in situ* de parientes silvestres de *Vanilla* spp., de Costa Rica, lo cual contribuiría con la reintroducción de diversidad genética en tales sitios.

LITERATURA CITADA

- Acevedo, H., A. Estrada, Q. Jiménez, y F. Murillo. 2001. Manual de plantas registradas en la cuenca hidrográfica del río Savegre, Costa Rica. Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio)/Museo Nacional de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Acuña, C. 2009. Desarrollo de una metodología de propagación, producción de raíces y formación de callos protocórmicos a partir de meristemos radicales de vainilla (*Vanilla planifolia*). Tesis Lic., Instituto Tecnológico de Costa Rica, San Carlos, Costa Rica.
- Anilkumar, A. 2004. *Vanilla* cultivation: A profitable agribased enterprise. Kerala Calling 2:26-30.
- Arias, V. 1987. Análisis del mercado de la vainilla. Dirección General de Mercadeo Agropecuario, Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), San José, Costa Rica.
- Arias, V. 1990. Aspectos generales del mercado de la vainilla. Dirección General de Mercadeo Agropecuario, Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), San José, Costa Rica.
- Baltazar, P. 2010. Caracteres morfológicos de vainilla (*Vanilla planifolia* J.) utilizados por el agricultor en la selección de material reproductivo en cuatro Municipios del Totonacapan, México. Tesis MSc., Colegio de Postgraduados, Puebla, México.

- Barrantes, L. 1988. Análisis económico y financiero para el establecimiento de una hectárea de vainilla del cantón de San Carlos, Provincia de Alajuela, Costa Rica. Tesis Ing. Agr., Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Barrera-Rodríguez, A.I., B.E. Herrera-Cabrera, J.L. Jaramillo-Villanueva, J.S. Escobedo-Garrido, y Á. Bustamante-González. 2009. Caracterización de los sistemas de producción de vainilla (*Vanilla planifolia* A.) bajo naranjo y en malla sombra en el Totonacapan. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 10(2):199-212.
- Besse, P., D. Da Silva, S. Bory, M. Grisoni, F. Le Bellec, y M-F. Duval. 2004. RAPD genetic diversity in cultivated *Vanilla*: *Vanilla planifolia*, and relationships with *V. tahitensis* and *V. pompona*. *Plant Science* 167(2):379-385.
- Bory, S., M. Grisoni, M-F. Duval, y P. Besse. 2008. Biodiversity and preservation of *Vanilla*: present state of knowledge. *Genetic Resources and Crop Evolution* 55:551-571.
- Bory, S., S. Brown, M-F. Duval, y P. Besse. 2010. Evolutionary processes and diversification in the genus *Vanilla*. En: E. Odoux, M. Grisoni, editores, *Vanilla*. CRC Press, Florida, US. p. 15-29.
- Brunschwig, C., P. Senger-Emonnot, M-L. Aubanel, A. Pierrat, G. George, S. Rochard, y P. Raharivelomanana. 2012. Odor-active compounds of Tahitian vanilla flavor. *Food Research International* 46(1):148-157.
- Cameron, K.M., y M.V. Chase. 1999. Phylogenetic relationships of pogoniinae (Vanilloideae, Orchidaceae): An herbaceous example of the Eastern North America- Eastern Asia Phytogeographic Disjunction. *Journal of Plant Research* 112:317-329.
- Castillo, R., y E.M. Engleman. 1993. Caracterización de dos tipos de *Vanilla planifolia*. *Acta Botánica Mexicana* 25:49-59.
- Castro, G. 2008. Evaluación del cultivo y producción de vainilla en la zona de Papantla, Veracruz, México. Tesis Dr. Sc., Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, Veracruz, México.
- Chandran, S., y J.T. Puthur. 2009. Assorted response of mutated variants of *Vanilla planifolia* Andr. towards drought. *Acta Physiologiae Plantarum* 31:1023-1029.
- Cordero, F., E. Corrales, y V. Vargas. 1984. El cultivo de la vainilla (*Vanilla planifolia*). Reporte. Instituto Tecnológico de Costa Rica, San Carlos, Costa Rica.
- Cruz, A. 2004. Análisis financiero y evaluación de la rentabilidad en el cultivo de la vainilla (*Vanilla planifolia*) en la región de Totonacápan, estado de Veracruz. Tesis Ing. Agr. Saltillo, Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", Coahuila, México.
- Divakaran, M., y K.N. Babu. 2009. Micropropagation and *in vitro* conservation of *Vanilla* (*Vanilla planifolia* Andrews). En: S.M. Jain, y P.K. Saxena, editores, *Protocols for in vitro cultures and secondary metabolite analysis of aromatic and medicinal plants*. Humana Press, Totowa, NJ, US. p. 129-138.
- Divakaran, M., K. Nirmal Babu, y K.V. Peter. 2006. Conservation of *Vanilla* species, *in vitro*. *Scientia Horticulturae* 110(2):175-180.
- Elorza, P., M.López, A. Hernández, G. Olmedo, C. Domínguez, y J. Maruri, J. 2007. Efecto del tipo de tutor sobre el contenido de vainillina y clorofila en vainas de vainilla (*Vanilla planifolia* Andrews) en Tuxpan, Veracruz, México. *UDO Agrícola* 7(1):228-236.
- FAO STAT. 2012. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#anchor> (Consultado 15 dic. 2012)
- Geetha, S. y S.A. Shetty. 2000. *In vitro* propagation of *Vanilla planifolia*, a tropical orchid. *Curr. Sci.* 79(6):9-12.
- George, P.S., y G.A. Ravishankar. 1997. *In vitro* multiplication of *Vanilla planifolia* using axillary bud explants. *Plant Cell Rep.* 16:490-494.
- Gigant, R., S. Bory, M. Grisoni, y P. Besse. 2011. Biodiversity and evolution in the *Vanilla* genus. En: O. Grillo, y G. Venora, editores, *The dynamical processes of biodiversity - case studies of evolution and spatial distribution*. InTech, FR. p. 1-26.
- Giridhar, P., y G.A. Ravishankar. 2004. Efficient micropropagation of *Vanilla planifolia* Andr. under influence of thidiazuron, zeatin and coconut milk. *Indian Journal of Biotechnology* 3:113-118.
- Gonzalez-Arno, M.T., C.E. Lazaro-Vallejo, F. Engelmann, R. Gamez-Pastrana, Y.M. Martinez-Ocampo, M.C. Pastelin-Solano, y C. Diaz-Ramos. 2009. Multiplication and cryopreservation of *Vanilla* (*Vanilla planifolia* "Andrews"). *In vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 45:574-582.
- González, K. 2003. Respuesta de tres explantes de vainilla (*Vanilla planifolia*) a diferentes frecuencias de inmersión temporal. Tesis Bach, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Costa Rica.

- Hailemichael, G., D. Tilahun, H. Kifelw, y H. Mitiku. 2012. The effect of different node number cuttings on nursery performance of *Vanilla* (*Vanilla planifolia* syn. *Vanilla fragrans*) in south western Ethiopia. *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science* 2(9):408-412.
- Havkin-Frenkel, D., y F.C. Belanger. 2007. Application of metabolic engineering to vanillin biosynthetic pathways in *Vanilla planifolia*. En: R. Verpoorte, A.W. Alfermann, y T.S. Johnson, editores, *Applications of plant metabolic engineering*. Springer, NL. p. 175-196.
- Hernández, C., editor. 1995. Memoria primer seminario sobre análisis y perspectivas del cultivo de vainilla en la Región Pacífico Central. Situación actual del cultivo de vainilla (*Vainilla planifolia*) en la región pacífico central, San José, Costa Rica. Set. 1995. Consejo Nacional de Producción (CNP). Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), San José, Costa Rica.
- Hernández-Hernández, J. 2011. Production of *Vanilla* – agricultural systems and curing. En: D. Havkin-Frenkel, y F.C. Belanger, editores, *Handbook of Vanilla Science and Technology*. Wiley-Blackwell. p. 1-25.
- Herrera-Cabrera, B.E., V.M. Salazar-Rojas, A. Delgado-Alvarado, J. Campos-Contreras, J. Cervantes-Vargas. 2012. Use and conservation of *Vanilla planifolia* J. in the Totonacapan Region, México. *Eur. J. Environ. Sci.* 2(1):43-50.
- Janarthanam, B., y S. Seshadri. 2008. Plantlet regeneration from leaf derived callus of *Vanilla planifolia* Andr. *Vitro Cell. Dev. Biol. - Plant* 44(2):84-89.
- Kalimuthu, K., R. Senthilkumar, y N. Murugalatha. 2006. Regeneration and mass multiplication of *Vanilla planifolia* Andr. – a tropical orchid. *Curr. Sci.* 91(10):1401-1403.
- Kelso-Bucio, H.A., K.M. Bâ, S. Sánchez-Morales, y D. Reyes-López. 2012. Estimación *in situ* del Kcini de la vainilla (*Vanilla planifolia* A). *AGROCIENCIA* 46(5):499-506.
- Korthou, H., y R. Verpoorte. 2007. *Vanilla*. In: R. Günter-Berger, editor, *Flavours and fragrances chemistry, bioprocessing and sustainability*. Springer, Hannover, DE. p. 203-213.
- Lubinsky, P., S. Bory, J. Hernández-Hernández, K. Seung-Chul, y A. Gómez-Pompa. 2008. Origins and dispersal of cultivated *Vanilla* (*Vanilla planifolia* Jacks. [Orchidaceae]). *Econ. Bot.* 62(2):127-138.
- Maruenda, H., M.D.L. Vico, J.E. Householder, J.P. Janovec, C. Cañari, A. Naka, y A.E. Gonzalez. 2013. Exploration of vanilla pompona from the Peruvian Amazon as a potential source of vanilla essence: quantification of phenolics by HPLC-DAD. *Food Chem.* 138(1):161-167.
- Medina, J., G. Rodríguez, H. García, T. Rosado, M. García, y V. Robles. 2009. *Vanilla: post-harvest operations*. FAO: Instituto Tecnológico de Veracruz (ITVER), México.
- MIDEPLAN (Ministerio de Planificación Nacional y Política Económica). 2010. Plan Nacional de Desarrollo 2011-2014 “María Teresa Obregón Zamora” (2010, San José, Costa Rica). MIDEPLAN, San José, Costa Rica.
- Minoo, D., V.N. Jayakumar, S.S. Veena, J. Vimala, A. Basha, K.V. Saji, K. Nirmal Babu, y K.V. Peter. 2007. Genetic variations and interrelationships in *Vanilla planifolia* and few related species as expressed by RAPD polymorphism. *Genet. Resour. Crop Evol.* 55(3):459-470.
- Miranda, H., editor. 1995. Memoria primer seminario sobre análisis y perspectivas del cultivo de vainilla en la Región Pacífico Central. Diagnóstico y muestreo de enfermedades de vainilla “*V. planifolia*” en la región de Aguirre: Quebrada Arroyo y Santo Domingo, San José, Costa Rica. Set 1995. Consejo Nacional de Producción (CNP). Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), San José, CR.
- Montoya, R. 2010. Comparación genética de diferentes genotipos de vainilla en Costa Rica. Tesis Bach, Universidad Nacional de Costa Rica, Heredia, Costa Rica.
- Osorio, A. 2012. Efecto de materiales orgánicos, fertilizantes e inóculos microbiales sobre el crecimiento y nutrición de plántulas de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks). Tesis MSc, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
- Pak, F.E., S. Gropper, W.D. Dai, D. Havkin-Frenkel, y F.C. Belanger. 2004. Characterization of a multifunctional methyltransferase from the orchid *Vanilla planifolia*. *Plant Cell Rep.* 22:959-66.
- Palama, T.L., P. Menard, I. Fock, Y.H. Choi, E. Bourdon, J. Govinden-Soulange, M. Bahut, B. Payet, R. Verpoorte, y H. Kodja. 2010. Shoot differentiation from protocorm callus cultures of *Vanilla planifolia* (Orchidaceae): proteomic and metabolic responses at early stage. *BMC Plant Biol.* 10:82.
- Paniagua, A., y J. García. 2009. Manual para el cultivo de vainilla en sistemas agroforestales. Instituto de

- Investigación y Servicios Forestales, Universidad Nacional, Costa Rica.
- Pignal, M. 2010. *Vanilla* in herbaria. En: E. Odoux, y M. Grisoni, editores, *Vanilla*. CRC Press, Florida, US. p. 43-49.
- Ramírez, C., B. Rapidel, y J. Matthey, editores. 1999. Reporte XI Congreso Nacional Agronómico, San José, Costa Rica. Principales factores agronómicos restrictivos en el cultivo de la vainilla y su alivio en la zona de Quepos, Costa Rica., San José, Costa Rica.
- Rivera, G., editor. 1995. Memoria primer seminario sobre análisis y perspectivas del cultivo de vainilla en la Región Pacífico Central. Enfermedades de la vainilla, San José, Costa Rica. Set. 1995. Consejo Nacional de Producción (CNP). Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), San José, Costa Rica.
- Rivera, G. 1996. Enfermedades comunes de la vainilla. Boletín Agrario 15(58):1-14.
- Rivera-Coto, G., y G. Corrales-Moreira. 2007. Problemas fitosanitarios que amenazan la conservación de las orquídeas en Costa Rica. Lankesteriana 7(1-2):347-352.
- Salazar-Rojas, V. 2011. Estrategia de uso y conservación del germoplasma de *Vanilla planifolia* Jack. en la región Totonacapan Puebla-Veracruz. Tesis Dr. Sc., Colegio de Postgraduados, Puebla, México.
- Salazar-Rojas, V.M., B.E. Herrera-Cabrera, A. Delgado-Alvarado, M. Soto-Hernández, F. Castillo-González, y M. Cobos-Peralta. 2011. Chemotypical variation in *Vanilla planifolia* Jack. (Orchidaceae) from the Puebla-Veracruz Totonacapan region. Genetic Resources and Crop Evolution 59:875-887.
- Sánchez-Chiang, N., y V. Jiménez. 2010. Técnicas de conservación *in vitro* para el establecimiento de bancos de germoplasma en cultivos tropicales. Agron. Mesoam. 21(1):193-205.
- Sasikumar, B. 2010. *Vanilla* breeding - A review. Agricultural reviews 31(2):139-144.
- Schlüter, P., M. Soto, y S. Harris. 2007. Genetic variation in *Vanilla planifolia* (Orchidaceae). Econ. Bot. 61:328-336.
- Soto, M. 1999. Filogeografía y recursos genéticos de las vainillas de México. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. J101. Instituto Chinoín, A.C., Herbario de la Asociación Mexicana de Orquideología, A.C. México, DF.
- Soto, M. 2006. La vainilla: retos y perspectivas de su cultivo. Biodiversitas 66:1-9.
- Soto, M. 2009. Recopilación y análisis de la información existente sobre las especies mexicanas del género *Vanilla*. Reporte. Herbario de la Asociación Mexicana de Orquideología, A.C., Instituto Chinoín, A.C. México, DF.
- Soto, M., y P. Cribb. 2010. A new infrageneric classification and synopsis of the genus *Vanilla* Plum. ex Mill. (Orchidaceae: Vanillinae). Lankesteriana 9(3):355-398.
- Soto, M., y R. Dressler. 2003. *Vanilla*. En: B. Hammel, M. Grayum, C. Herrera, y N. Zamora, editores, Manual de plantas de Costa Rica, Volumen III Monocotiledóneas (Orchidaceae-Zingiberaceae). Missouri Botanical Garden, INBio, Museo Nacional de Costa Rica. p. 583-587.
- Soto, M., y R. Dressler. 2010. A revision of the Mexican and Central American species of *Vanilla* Plumier ex Miller with a characterization of their its region of the nuclear ribosomal DNA. Lankesteriana 9(3):285-354.
- Sujatha, S., y R. Bhat. 2010. Response of *Vanilla* (*Vanilla planifolia* A.) intercropped in arecanut to irrigation and nutrition in humid tropics of India. Agric. Water Manag. 97:988-994.
- Tan, B.C., C.F. Chin, y P. Alderson. 2010. Optimization of plantlet regeneration from leaf and nodal derived callus of *Vanilla planifolia* Andrews. Plant Cell Tissue Organ Cult. 105:457-463.
- Tapia, A. 2011. Cambios bioquímicos y microestructurales en vainas de vainilla (*Vanilla planifolia*; Orchidaceae) durante el beneficio tradicional realizado en México. Tesis Dr. Sc., Instituto Politécnico Nacional, México.
- Weiss, E.A. 2002. Spice crops. CABI Publishing, Wallingford, UK.