

TURRIALBA

REVISTA INTERAMERICANA DE CIENCIAS AGRICOLAS

VOLUMEN 41

TRIMESTRE ABRIL-JUNIO 1991

NUMERO 2

CODEN TURRAB 41(2):129-274

Persistence of atrazine in a humid tropical soil in the early and late cropping seasons. O.A. Akinjemiju	129
Efectos de la fertilización sobre sistema radicular de cacao en suelos de "tabuleiros" del sur de Bahia, Brasil. A.C. da Gama Rodríguez; A. Cadima Zevallos	135
Some agronomic and nutritional characteristics of <i>Canavalia</i> sp. R. Bressani, L. Estrada-Ligorria, A. Garcia-Soto	142
Efectos comparativos en cultivos intensivos sobre nutrimentos en oxisoles desforestados. J.A. Diez, A. Polo, C. Cerri, F. Andreux	150
Changes in some odor-active volatiles in apples during storage in air and in simulated low-ethylene controlled atmosphere. E.M. Yahia	160
Alteraciones en el crecimiento radical de cultivares de sorgo infestados con pulgón verde. A.M. Castro, C.P. Rumi, H.O. Arriaga	166
Mulching an Ultisol in Southern Nigeria: Effects on physical properties and yields of maize and cowpea. J.S.C. Mbagwu	172
Almacenamiento de frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) con diferentes grados de dureza inicial. E.M. Martínez, J.R. González, C.B. Ocampo	178
Histology and gibberellin levels in healthy and diseased maize (<i>Zea mays</i> L.) roots affected by "Mal de Rio Cuarto". M.C. Tordable, N. Tavecchio, E. Lorenzo, G. Abdala	183
Una variante micelial albina de <i>Septoria lycopersici</i> SPEG. A. Perelló, S. Wolcan, H. Alippi	190
Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and activated charcoal on somatic embryogenesis of <i>Bactris gasipaes</i> H.B.K. M. Stein, C. Stephens	196
Selección familiar de progenies de Hermanos Completos en poblaciones de maíz para el trópico mexicano. M. Sierra, R.E. Preciado, J.J. Alcázar, F.A. Rodríguez	202
<i>Cajanus cajan</i> L. Millsp. (gandul) recurso forrajero explotable en México: Su composición química. A.J. Sandoval, M.L. Arellano, J.M. Carranco, R.F. Pérez-Gil, P. Balvanera	211
Nitratos en un suelo cultivado con trigo: Variabilidad espacial e influencia del cultivo antecesor. M.M. Zubillaga, J. Sierra, L. Barberis	217
Soil-loss tolerance of some Nigerian soils in relation to profile characteristics. J.S.C. Mbagwu	223
Mineral deficiencies of forest trees in Yucatan (Mexico) and consequences for land-use. W. Zech, P. Drechsel, B. Neugebauer	230
Control del picudo de la caña de azúcar <i>Sphenophorus levis</i> Vaurie (Col: Curculionidae) con <i>Beauveria bassiana</i> y <i>B. brongniartii</i> en condiciones de laboratorio y campo. F.F. Badilla, S.B. Alves	237
Antiphytoviral drugs against tomato spotted wilt virus. G. de Fazio, M. Vicente	244
Pearl Millet. II. Vigor evaluation and selection for improved seedling vigor. R.K. Maiti, P.S. Raju, F.R. Bedinger	254
Clasificación morfológica de 23 cultivares de yuca de <i>Manihot esculenta</i> Crantz. del subtrópico húmedo boliviano. J. Lennis, A. Alvarado, R. Vera	258
Comunicación: Influencia de los niveles de hierro en la absorción de manganeso por plantas de soja. E.O. Leidi, M. Gómez	266
Notas	272
Reseña de libros	134, 149, 165, 222, 253



INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA

San José, Costa Rica

CR ISSN 0041 - 4360

Persistence of Atrazine in a Humid Tropical Soil in the Early and Late Cropping Seasons¹

O.A. Akinyemiju*

ABSTRACT

The persistence of atrazine (6-chloro-N-ethyl-N'-(1-methyl ethyl)-1, 3, 5-triazine-2, 4-diamine) was monitored using a tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bioassay in both the early and late cropping seasons of a humid tropical environment. A single soil application of atrazine at 3.0 kg and 6.0 kg a.i./ha in the early season, and 1.5 kg, 3.0 kg and 6.0 kg a.i./ha in the late season was carried out in the field at the beginning of each planting season. The amount of atrazine residue in the surface soil after application was monitored using three-week-old tomato seedlings. Results showed that atrazine applied at the field rate of 3.0 kg a.i./ha was no longer present at a phytotoxic level at 70 days after application, irrespective of the season. Doubling the rate of application to 6.0 kg a.i./ha did not increase the persistence beyond the 70 days after application in both seasons. The best fit multiple regression equations showed that an assessment of the number of plants showing visual symptoms of atrazine injury, the extent of leaf area showing necrotic lesions and the shoot dry weight of the tomato seedlings can be used jointly or individually as indices of phytotoxicity in monitoring atrazine residue in this tropical soil.

COMPENDIO

La persistencia de atrazina (6-cloro-N-etil-N'-(1-metiletil)-1, 3, 5-triazina-2, 4-diamina) fue determinada mediante un bioensayo en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), durante las temporadas de cosecha precoz y tardía, en suelo o medio húmedo tropical. Se aplicó, en el suelo, una dosis de atrazina de 3.0 kg y 6.0 kg i.a./ha en la temporada precoz, y de 1.5 kg i.a./ha, 3.0 kg i.a./ha, y 6.0 kg i.a./ha en la tardía, al inicio de la plantación. Se midió la cantidad de residuos de atrazina, en la superficie del suelo después de la aplicación, en plántulas de tomate de tres semanas. Los resultados demostraron la ausencia de fitotoxicidad, en una proporción de 3.0 kg i.a./ha de atrazina, setenta días después de la aplicación, en cualquier temporada. La tasa duplicada no aumentó la persistencia en los setenta días siguientes, en ambas épocas. Las ecuaciones de regresión más adecuadas demostraron que la valoración, distinta o en conjunto, del número de plantas con síntomas visuales, de la extensión de lesiones necróticas sobre la superficie de las hojas, y del peso seco de las plántulas, puede utilizarse como índice de fitotoxicidad, para estimar los residuos de atrazina.

INTRODUCTION

The current increase in the use of atrazine in small to large scale maize farms in Nigeria has generated interest in the study of the persistence of atrazine in Nigerian soils (1, 6, 12). The persistence of atrazine in soils is important in knowing the

duration of effective weed control and in deciding what crops will follow where atrazine has been used in a previous season.

The persistence of atrazine has been determined in the humid and sub-humid ecological zones in Nigeria (1, 6, 12). These studies were restricted to only one of the two seasons of the humid tropical region. The two cropping seasons are distinguished primarily on

¹ Received for publication 31 August 1988.

* Department of Plant Science, Obafemi Awolowo University, Ile-Ife, Nigeria.

the basis of the amount and distribution of rainfall between January and December. It is expected that atrazine persistence in the two season will depend primarily on the amount and distribution of rainfall and its effect on the soil's physical and chemical properties.

Herbicide concentration in soils can be determined by chemical analyses or by bioassay (2). Recently, the persistence of atrazine in a Nigeria soil was determined using the spectrophotometric method (1).

However, this method is cumbersome and expensive, and may not correlate well with plant response. Chemical analyses in general only determine the amount of herbicide present in the soil, which may or may not be directly available to the crop. Bioassay techniques have been used extensively as a rapid, inexpensive method for the quantitative determination of herbicide residue in soil (2, 3, 5, 9). Bioassays, unlike chemical analyses, monitor the actual phytotoxic amounts of herbicide residue available to sensitive crops.

The objective of this study was to monitor the persistence of atrazine in a tropical rainforest soil both in the early and late cropping seasons using a tomato bioassay. It is expected that the bioassay will confirm results from a previous chemical analysis of atrazine residue and provide a simple and quick method of monitoring atrazine residue in the humid tropical field soil.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted at the University Teaching and Research Farm Obafemi Awolowo University, Ile-Ife in the early (April-July) and late (August-November) cropping seasons of 1983. The weather conditions at the farm (lat. 7° 28' N, long. 4° 33' E and altitude 244 masl) during the year the experiment was conducted are presented in Table 1, and are typical of the pattern in the tropical rain forest belt of the humid tropics. The experimental field had been in fallow for the previous fifteen years. Before the study was laid out the land was cleared, ploughed twice and harrowed once with a tractor-mounted disc plough or harrow. The soil was of a loamy-sand texture with an organic matter content of 2% C and pH 6.1. In the early season trial, the experiment was located on a 25 m x 11 m plot containing three replicates of 25 m x 3 m each, and with a 1 m strip separating each replicate. Each replicate was further divided into 3 plots of 25 m x 1 m each. Two rates of atrazine, 6.0 kg and 3.0 kg a.i./ha and a control (0.0 kg a.i./ha) were applied at random among the three plots of each replicate. The layout and design in the late season was similar to the previous one except for the inclusion of a new rate of 1.5 a.i./ha atrazine.

In each trial, the weighed atrazine was mixed with two liters of water and sprayed on the 25 m x 1 m strips using portable pressurized sprayers previously calibrated to deliver two liters of spray solution per 25 m² at a pressure of 2-3 kg/cm². The spraying was

Table 1. Weather data at the University Teaching and Research Farm Obafemi Awolowo University (January – December 1983).

Month	Temperature° C		Relative (10.00 h)	Humidity (%) (16.00 h)	Sunshine (h) mean	Total (mm)	Rainfall (rainy days)	Solar radiation (watts/m ² /d)
	Mean (10.00 h)	Depth soil at 10 cm						
Jan	21.5	26.9	39.6	24.7	5.4	0	0.0	4 128
Feb.	24.15	31.9	65.4	34.4	6.4	2.6	1.0	4 576
March	26.6	30.3	60.6	27.3	4.8	0.5	1.0	4 036
April	26.9	29.1	77.1	48.6	6.3	108.8	7.0	3 867
May	26.1	28.6	80.9	63.1	5.6	158.7	12.0	2 559
June	24.1	26.9	86.4	73.1	3.6	198.1	17.0	3 990
July	23.1	27.0	87.0	74.0	4.5	169.9	13.0	...
Aug.	22.3	26.0	77.9	75.5	1.1	42.7	7.0	4 039
Sept.	23.6	26.5	86.0	70.6	3.3	174.0	19.0	3 560.1
Oct.	24.9	27.6	82.0	62.5	4.7	54.3	8.0	4 107.4
Nov.	25.6	28.8	74.0	49.0	6.8	0.0	0.0	4 592
Dec.	24.5	25.9	77.4	55.3	5.0	35.3	3.0	3 814

carried out on April 20, and September 9, 1983 for the early and late seasons respectively.

Soil samples were collected from a randomly selected 1 m x 1 m x 7.5 cm section of each 25 m x 1 m herbicide-treated strip, and from the control in the three replicates, for a total of nine samples in the early, and 12 samples in the late season trials, respectively, at each sampling date. Each soil sample was scooped with a hand trowel to a depth of 7.5 cm, thoroughly mixed and distributed equally into three wooden trays each measuring 45 cm x 35 cm x 7.5 cm. In both seasons the first soil sample was collected immediately after atrazine application, the next two samples were collected at weekly intervals, while subsequent samples were collected at two-weekly intervals.

Bioassay

Tomato (*L. esculentum* Mill.) seeds were first sown at a rate of 144 per wooden tray measuring 45 cm x 35 cm x 7.5 cm and filled with steam pasteurized greenhouse soil. Watering was carried out regularly every morning for three weeks, a period, determined by a preliminary test, to be sufficient to produce suitable tomato seedlings for the bioassay. Tomato seedlings were subsequently produced for each bioassay by seeding tomato, three weeks before a set of soil samples were collected. Seedlings used for each bioassay were selected among several for uniformity in vigour, height and number of leaves. Twenty tomato seedlings were then transplanted into each tray containing the treated soil sample, for a total of 60 seedlings distributed in three trays per soil sample.

Height, number of leaves, number of plants showing symptoms of atrazine injury and, percentage leaf area showing necrosis and "burning" effects were determined two weeks after each transplanting. The shoot dry weight was also taken at the same time after oven drying at 80°C for 48 hours. Subsequent sampling and transplanting were carried out until no visual symptoms of herbicide injury was observed on two consecutive sampling periods.

The experiment was a split-plot design with rates of atrazine as main plots and times after application as subplots. There were three replicates of each rate of atrazine and the control, and treatments were

randomized within each block. The data collected were analysed statistically and means were compared using the least significant difference (LSD) test at the 5 per cent level of probability (11). Parameters that showed potential for use in monitoring the phytotoxicity of atrazine residue in the soil were further subjected to regression analysis and the best-fit regression models and curves for the data are presented.

RESULTS

The response of the most responsive *L. esculentum* Mill. parameters evaluated at the different times after atrazine application in the early and late seasons are presented in Figs. 1 and 2.

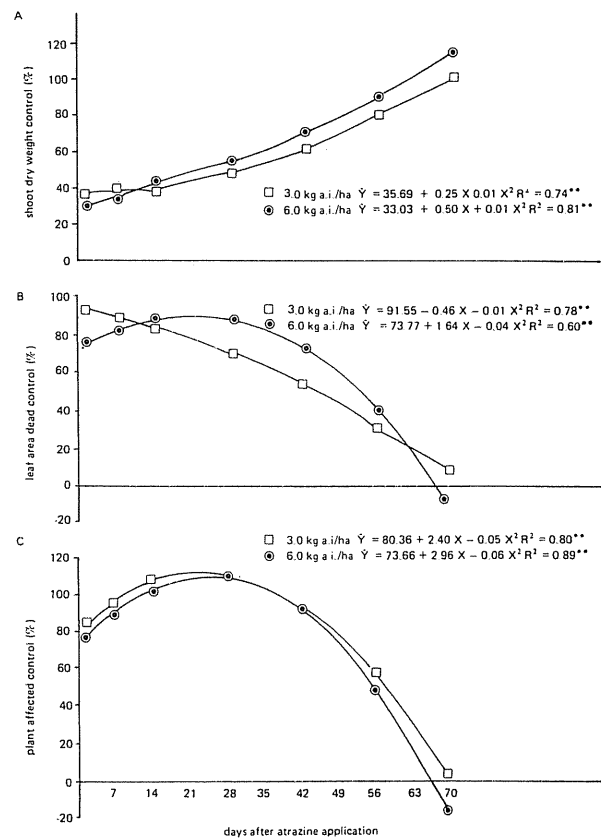


Fig. 1 Disappearance of atrazine following a pre-emergence application on a humid tropical soil in early season.

Fig. 1 shows the fitted curves from the best multiple regression equation of the two visually-assessed parameters, number of plants affected (NPA)

and leaf area dead (LAD), and the shoot dry weights (SDW) on time after atrazine application in the early season. The number of plants showing visual symptoms and the leaf area showing necrotic lesions (dead), decreased generally from the highest (0 d) to the lowest (70 d) after application when plants on treated soil were not different from the untreated control. Similarly the shoot dry weight at both levels of application showed a progressive increase from time of application to day 70 when treatment effect had disappeared (Fig. 1). The unstandardized partial regression coefficients (b-values) and coefficient of determination (R^2) from the multiple regression equations using the three parameters NPA, LAD, and SDW in the early season is shown in Table 2. The contribution of the cubic equation is very small, and as such was discarded; variation in the response of the evaluated parameters is accounted for by the quadratic equation (Table 2).

Table 2. Unstandardized partial regression coefficients (b-values) and coefficient of determination (R^2) from multiple regression of time after atrazine application (X) on different tomato bioassay parameters in the early season.

Tomato bioassay parameter	Rates of atrazine (kg a.i./ha)	b-values	R^2
Number of plants injured	3.0	X -2.40	0.57**
		X ² -0.05	0.80**
	6.0	X 2.96	0.54**
		X ² -0.06	0.89**
Leaf area dead	3.0	X -0.46	0.76**
		X ² -0.01	0.78**
	6.0	X 1.64	0.44**
		X ² -0.04	0.60**
Shoot dry weight	3.0	X 0.25	0.72**
		X ² 0.01	0.74**
	6.0	X 0.50	0.80**
		X ² 0.01	0.81**

** = Significant at $P = 0.01$

Also the coefficients of determination in the quadratic equation for each parameter were very significant (at 1% level) and hence the choice of the quadratic to fit the response curves.

The fitted graphs from multiple regression equations of the parameters evaluated for the late season trial is shown in Fig. 2. The same parameters

selected for the multiple regression equations in the early season were also used in the late season. In general, the parameters experienced the highest degree of phytotoxicity at the earlier days after application, but the phytotoxic effect of atrazine residue decreased with time until day 70 when treatment effect was no longer observed.

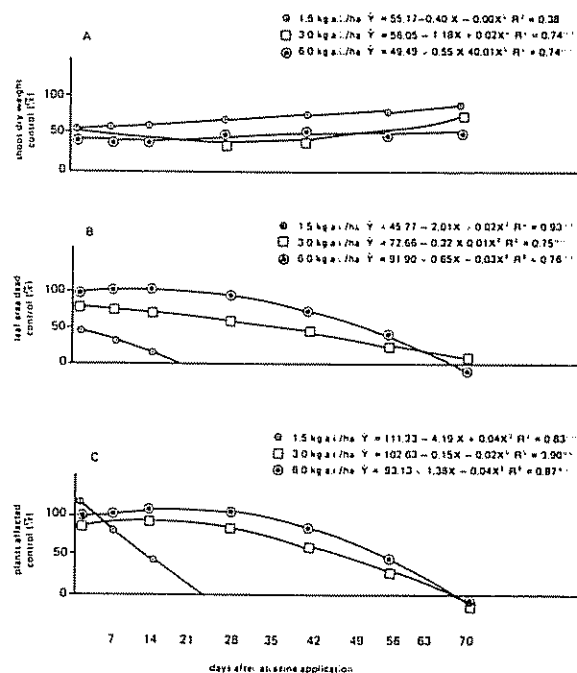


Fig. 2 Disappearance of atrazine following a pre-emergence application on a humid tropical soil in the late season.

There were differences in the response of the different rates of atrazine: the lowest rate, showing the least phytotoxic effect while the highest rate showed the most (Fig. 2). Table 3 shows the b-values and R^2 from the quadratic regression equations. Again, as observed in the equation obtained from the early season trial, most of the R^2 are significant at the 1 per cent level, and most of the observed responses can be explained by the quadratic equation (Table 3).

DISCUSSION

It could be inferred from the results presented that atrazine at field rates of 3.0 kg a.i./ha disappeared from the soil and was no longer present in sufficient quantities to be phytotoxic to *L. esculentum* Mill.

Table 3. Unstandardized partial regression coefficient (b-values) and coefficient of determination (R^2) from multiple regression of time after atrazine application (X) on different tomato bioassay parameters in the late season.

Tomato bioassay parameter	Rate of atrazine (kg a.i./ha)	b-values	R^2	
Number of plants injured	1.5	X	4.19	0.70**
		X ²	0.04	0.83**
	3.0	X	-0.15	0.85**
		X ²	-0.02	0.90**
	6.0	X	1.38	0.65**
		X ²	-0.04	0.87**
Leaf area dead	1.5	X	-2.02	0.68**
		X ²	0.02	0.93**
	3.0	X	-0.32	0.73**
		X ²	-0.01	0.75**
	6.0	X	0.65	0.65**
		X ²	-0.03	0.76**
Shoot dry weight	1.5	X	0.40	0.38**
		X ²	0.00	0.38NS
	3.0	X	-1.8	0.40*
		X ²	0.02	0.74**
	6.0	X	-0.55	0.60**
		X ²	0.01	0.74**

*, ** Significant at P = 0.05 and 0.01 respectively; NS = not significant

seedlings at 70 d after the initial application, irrespective of the season. Doubling the rate from 3.0 to 6.0 kg a.i./ha did not increase the persistence beyond the 70 d when most of the atrazine had disappeared.

In an earlier study Akinyemiju *et al.* (1) reported the short persistence of atrazine in a similar soil. Using a spectrophotometer they observed that only about 10 ppm of initial atrazine was detected in the soil at 70 d after an application of 3.0 kg. Work done at the International Institute of Tropical Agriculture (6) and by Utulu *et al.* (12) also showed that atrazine at the field rate of 3.0 kg a.i./ha persists for only eight weeks in two different ecological zones within Nigeria, and that doubling the rates did not increase its persistence. Thus the *L. esculentum* Mill. bioassay has confirmed the short persistence of atrazine, as reported earlier on this soil, and has shown that it could be used to monitor the actual phototoxic amount of atrazine residue in the soil. The short persistence of atrazine (70 d) in this tropical soil and

environment is in contrast to those reported for temperate zone soils where a field rate of 3.0 kg a.i./ha atrazine is expected to give a full season's control of between 3 - 12 months (4, 7, 8). The short persistence in this humid tropical soil, in contrast to the longer persistence in the temperate zone soils, can be explained by the observation in Slack *et al.* (10) that a warm, moist climate promotes the disappearance of triazine herbicides from soil and that persistence is more prolonged in cold, dry climates.

In 1983 when this experiment was conducted, the distribution of rainfall in the two seasons was similar; the total amounts of rainfall (468.7 mm in the early and 305.3 mm in the late seasons) were different. In spite of the differences in the amount of rainfall, the disappearance of atrazine in both seasons was similar. In the late season there were differences in the disappearance of each rate of atrazine. The difference might be due to the lower amount of total rainfall which might have reduced run-off and leaching losses thereby allowing the different rates to be differentially degraded.

The graphs of the regression analyses showed that any of the three selected tomato bioassay parameters, NPA, LAD and SDW, could be used as a single index of phytotoxicity in monitoring atrazine in soils because each of them had a high and significant coefficient of determination. These parameters are fairly easy to determine and show relative sensitivity at different rates of atrazine.

LITERATURE CITED

1. AKINYEMIJU, O.A.; OGUNYEMI S.O.; OJO I.O. 1986. Persistence of atrazine in a humid tropical soil. *Nigerian Journal of Agronomy* 1:15-22.
2. APPLEBY, A.P. 1985. Factors in examining fate of herbicides in soil with bioassay. *Weed Science* 33 (Suppl. 2):1-6.
3. GROVES, K.E.M.; FOSTER, R.K. 1985. A corn (*Zea mays* L.) bioassay technique for measuring chlorsulfuron levels in three Saskatchewan soils. *Weed Science* 33:825-828.
4. HAMAKER, J.W. 1972. Decomposition: Quantitative aspects. In *Organic Chemicals in Soil Environment*. C.A.I. Goving, J.W. Hamaker (Eds.) Dekker. p. 225-340.

5. HOROWITZ, M. 1976. Application of bioassay techniques to herbicide investigations. *Weed Research* 16:209-215.
6. IITA (INTERNATIONAL INSTITUTE OF TROPICAL AGRICULTURE). 1981. Annual report of 1980. Ibadan, Nigeria.
7. KEARNEY, P.C.; WOOLSON, E.A.; PLIMER, J.R.; ISENSEE, A.R. 1979. Decontamination of pesticides in soils. *Residue Review* 29:137-149.
8. KLINGMAN, G.C.; ASHTON, F.M. 1975. *Weed science: Principles and practice*. Wiley-Interscience. 431 p.
9. NYFFELER, A.; GERBER, H.R.; PESTEMER, W.; SCHIDI, R.R. 1982. Collaborative studies of dose-response curves obtained with different bioassay methods for soil applied herbicides. *Weed Research* 22:213-222.
10. SLACK, C.H.; BLEVINS, R.L.; RIECK, C.E. 1978. Effect of soil pH and tillage on persistence of simazine. *Weed Science* 26:145-148.
11. STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. 1980. *Principles and procedures of statistics*. 2nd ed. New York, McGraw-Hill. 481 p.
12. UTULU, S.N.; AKOBUNDU, I.O.; FAYEMI, A.A.A. 1986. Persistence and downward movement of some selected herbicides in the humid and subhumid tropics. *Crop Protection* 5:129-136.

RESEÑA DE LIBROS

INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. 1990. Phosphorus requirements for sustainable agriculture in Asia and Oceania. Manila, Filipinas, IIRI, 478 p.

Este volumen presenta los trabajos específicos y las recomendaciones de los grupos de trabajo de una conferencia promovida por el *International Rice Research Institute* (IRRI), las Naciones Unidas y diversas organizaciones técnicas.

Dichos trabajos resumen información muy actualizada sobre tres tópicos: a) el estado y el manejo del fósforo en los cultivos principales de Asia y Oceanía: arroz, leguminosas de grano y diversos cultivos perennes como café, té, cacao, palma aceitera y otros; b) el uso del fósforo y sus abonos en diferentes partes de la región; y c) los aspectos básicos del comportamiento del fósforo y los factores de los suelos de la región que influyen en él.

Se presenta una amplia discusión sobre las diferentes formas de fósforo que se pueden usar, con énfasis en aquellas de bajo costo, como las rocas fosfatadas y sus diferentes formas tratadas. También se examinan las interacciones entre el fósforo y otros elementos esenciales, respecto de las condiciones agrícolas de la región, en medios similares a los de Latinoamérica.

Este texto, como muchos otros editados por el IRRI, es una excelente adición para todas las bibliotecas de investigación y enseñanza de agricultura tropical, ya que en él se presenta información muy actualizada y acompañada por citas bibliográficas pertinentes.

ELEMER BORNEMISZA
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Efectos de Fertilización sobre Sistema Radicular de Cacao en Suelos de "Tabuleiros" del Sur de Bahia, Brasil¹

A. C. da Gama Rodrigues*; A. Cadima Zevallos**

ABSTRACT

The effect of fertilization with NPK and organic matter on the distribution of the root system of ten-year-old cacao trees (*Theobroma cacao* L.) was evaluated in areas with and without burning. The experiment was carried out in a yellow latosol ("tabuleiro") at the Gregório Bondar Experimental Station, with four treatments of N, P₂O₅ and K₂O in the following proportions: treatment 1, 0, 0, 0 kg·ha⁻¹ and treatment 2, 60, 180, 60 kg·ha⁻¹ in areas with burning; treatment 3, 0, 0, 0 kg·ha⁻¹ and treatment 4, 60, 90, 60 kg·ha⁻¹ in areas without burning. In the latter two treatments, 16 t of bovine manure per hectare were added. The sources of N, P₂O₅ and K₂O were urea, triple superphosphate and potassium chloride, respectively. Dry matter production of lateral roots was determined as well as the volume of the principal root and the trunk. The cacao tree showed a superficial root system in all treatments. Treatment 2 caused significant increases in the dry matter production of the lateral roots and resulted in a longer principal root. Compaction of the soil, due to the use of heavy machines in the preparation of the soil without burning, increased the volume of the lower third of the principal root in treatment 3 and 4. However, treatments 2 and 4 showed a tendency to a greater total volume of the principal root. Only in treatment 3 and 4 was the correlation of total volume of the principal root and volume of the trunk highly significant. In treatment 2 the correlation was negative, but not significant. For trunk volume, there was no significant difference among the treatments.

COMPENDIO

Se evaluó el efecto de la fertilización con NPK y materia orgánica sobre el sistema radicular de *Theobroma cacao* L. con 10 años de edad, en áreas con y sin quema. El ensayo fue efectuado en la Estación Experimental "Gregório Bondar", en latosol amarillo "tabuleiro". Se emplearon cuatro tratamientos de fertilización con N, P₂O₅ y K₂O con las siguientes proporciones: tratamiento 1 (0, 0, 0 kg·ha⁻¹) y tratamiento 2 (60, 180, 60 kg·ha⁻¹) en área con quema; tratamiento 3 (0, 0, 0 kg·ha⁻¹) y tratamiento 4 (60, 90, 60 kg·ha⁻¹) en áreas sin quema. Se adicionaron 16 t/ha de estiércol en los tratamientos 3 y 4. Las fuentes fueron: urea, superfosfato triple y cloruro de potasio, respectivamente. Se determinó la producción de materia seca en las raíces laterales, el volumen de la raíz principal y del tronco. El cacaotero presentó un sistema radicular superficial en los cuatro tratamientos. El tratamiento 2 aumentó significativamente la producción de materia seca de las raíces laterales y promovió significativamente la mayor longitud de la raíz principal. La compactación del suelo, con máquinas pesadas en el área sin quema, aumentó el volumen del tercio inferior de la raíz principal en los tratamientos 3 y 4. Pero, en los tratamientos 2 y 4 se promovió un mayor volumen total de la raíz principal. En los tratamientos 3 y 4, la correlación entre el volumen total de la raíz principal y el del tronco fue altamente significativo. En el tratamiento 2 la correlación fue negativa, sin ser significativa. En el volumen del tronco, no hubo diferencia significativa entre tratamientos.

INTRODUCCION

El sistema radicular del cacaotero tiene una raíz principal de forma cónica, con ramificaciones en su extremidad, y, que, dependiendo del tipo de suelo, profundiza hasta 1.50 m (2). Las raíces laterales poseen crecimiento horizontal y se concentran, principalmente, en la capa del suelo de 0-30

¹ Recibido para publicación el 9 de diciembre de 1988.

* Investigadores del Centro de Pesquisas de Cacao, CEPEC/CEPLAC, km 22, Rod. Ilhéus - Itabuna, 45 600, Itabuna, Bahia, Brasil.

cm (4, 5), y las raíces finas se concentran en el interior de la capa de bioza o "litter", en una profundidad de 5 cm (9, 11, 12, 14).

El cacaotero presenta un crecimiento de raíces de acuerdo con el tipo de suelo (2, 10, 18). Para que exista un crecimiento profundo de la raíz principal, es necesario que el suelo tenga buena porosidad y drenaje, y ausencia de charcos frecuentes. En suelos poco aireados con agua subterránea, cercana a la superficie, el cacaotero presenta, generalmente, una raíz principal raquílica con ramificaciones fibrosas (3). En estas condiciones, en períodos de estíos prolongados, el desenvolvimiento del cacaotero es perjudicado (1).

A medida que aumenta la resistencia a la penetración del suelo, disminuye el crecimiento de las raíces y, consecuentemente, la producción del cacaotero (5). La densidad total del suelo encima de 1.20 g cm^{-3} hace decrecer la producción de materia seca del sistema radicular y restringe la penetración de la raíz principal, con reflejos negativos sobre el desarrollo de la parte aérea de la planta (19). La profundidad de las raíces de cacao es mayor en períodos de estíos, ya que existe una fertilidad natural satisfactoria a lo largo del perfil (4).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la fertilización química y orgánica sobre la distribución del sistema radicular de cacaoteros, plantados en áreas con y sin quema.

MATERIALES Y METODOS

El suelo donde se instaló el experimento es Latosol Amarillo, variación "tabuleiro" (Haplorthox), de textura arcillo-arenosa, baja concentración de hierro, elevada acidez, baja fertilidad natural (13) y físicamente compacto entre 30 cm y 75 cm de profundidad, con densidades totales que varían 1.53 g cm^{-3} y 1.41 g cm^{-3} , respectivamente (6). El clima de la región es del tipo Af de Köepen, caliente, húmedo, con precipitación pluvial anual de 1433 mm y sin estación seca definida (8). La temperatura media anual es de 24°C con una máxima de 28.4°C y mínima de 20.3 grados centígrados.

La preparación del área sin quema, para el plantío de cacaoteros, fue realizada con un tractor de rastra. Ninguna máquina pesada fue utilizada en la

preparación del área con quema. El estudio de las raíces de los cacaoteros fue realizado como parte de un ensayo mayor de dosis de fertilizantes, ya que en el área sin quema se utilizaron 16 t ha^{-1} de estiércol bovino en el hoyo de $0.60 \text{ m} \times 0.60 \times 0.60$ metros. La unidad experimental constó de 12 cacaoteros de la combinación híbrida SIC-4 x ICS-8, plantados en julio de 1977 en las dos áreas.

Las raíces de cacaoteros con 10 años de edad fueron estudiadas en los tratamientos con y sin dosis de 60, 180 y 60 kg ha^{-1} de N, P_2O_5 y K_2O , respectivamente, en el área con quema debido a la falta de uniformidad en el desarrollo de las plantas con el tratamiento central (60, 90, 60). Sin embargo, en el área sin quema las dosis de N, P_2O_5 y K_2O fueron de 60, 90 y 60 kg ha^{-1} , respectivamente.

Los tratamientos fueron ordenados de acuerdo con el Cuadro 1. Nitrógeno, P_2O_5 y K_2O fueron aplicados en forma de sulfato de amonio, superfosfato triple y cloruro de potasio, respectivamente. La aplicación de N y K fue fraccionada, aplicando un tercio y dos tercios de las dosis previstas en 1978 y 1979, respectivamente; empleándose las dosis completas a partir de 1980. El procedimiento utilizado para la obtención de las raíces de cacaoteros fue abrir calicatas de 1.50 m de largo, 0.80 m de ancho y 1.00 m de profundidad a 1.00 m de la base de los cacaoteros. Para la recolección de las muestras de tierra, la calicata fue dividida en cinco rectángulos de 0.30 m de largo, 0.20 m de profundidad y 0.05 m de ancho, en las tres profundidades del suelo (0 - 20, 20 - 40 y 40 - 60 cm) (Fig. 1).

Cuadro 1. Tratamientos utilizados para el estudio del sistema radicular del cacaotero (SIC - 4 x ICS - 8).

Tratamientos*	Quema	N kg ha ⁻¹	P ₂ O ₅ kg ha ⁻¹	K ₂ O kg ha ⁻¹	Estiércol bovino t ha ⁻¹
1	+	0	0	0	0
2	+	60	180	60	0
3	-	0	0	0	16
4	-	60	90	60	16

* N = urea; P_2O_5 = superfosfato triple; K_2O = cloruro de potasio.

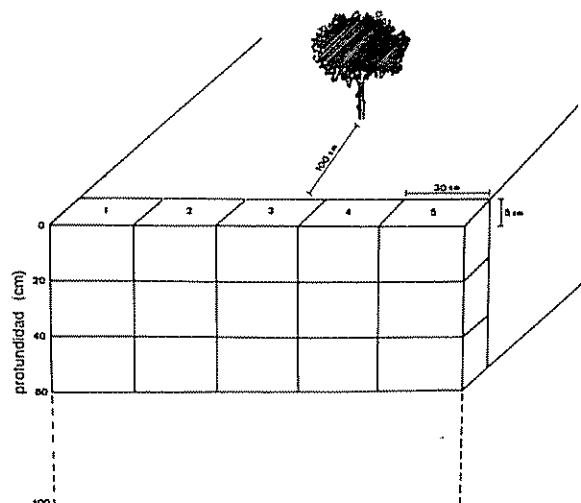


Fig. 1. Esquema del estudio de las raíces laterales del cacaotero por rectángulos en el perfil del suelo.

Las muestras de tierra de cada rectángulo fueron colocadas en sacos de polietileno de tres kilogramos, separándose después las raíces para determinar la producción de materia seca. Se midió también el volumen de la raíz principal y del tronco por la siguiente ecuación:

$$V = A \cdot L \cdot F, \text{ donde}$$

V = volumen (cm³)

A = área de la sección transversal (cm²)

F = factor de corrección igual a 0.7

L = longitud (cm)

El factor de corrección fue utilizado para medir el volumen de la raíz principal y del tronco en la forma de un cilindro.

Los análisis químicos del suelo fueron determinados por el método de Vettori (21). Los procedimientos estadísticos constaron de un análisis de variancia, con aplicación de la prueba F para medir la significancia (5% de probabilidad) y la alta significancia (1% de probabilidad). Para las fuentes de variación, donde hubo diferencia significativa, aplicóse la prueba de Duncan ($P = 0.05$) para comparación del grupo de medias.

RESULTADOS Y DISCUSION

Raíces laterales

En todos los tratamientos, el cacaotero presentó gran concentración de raíces en la capa de 0 - 20 cm, con diferencia significativa en las capas subsiguientes (Cuadro 2). El tratamiento 2 difirió significativamente de los otros tratamientos solamente en la capa de 0 - 20 cm, en tanto que los tratamientos 1 y 2 presentaron en la capa de 20 - 40 cm una ligera tendencia a la mayor concentración de raíces (Cuadro 2), probablemente debido al sistema de manejo del suelo empleado, en el cual se utilizó la quema sin el uso de máquinas pesadas. La causa porque el tratamiento 2 difirió significativamente de los otros, se debió al alto tenor de fósforo en la capa de 0 - 20 cm, mientras que en las capas subsiguientes los tenores de ese

Cuadro 2. Producción de materia seca de las raíces laterales del cacaotero por capa de suelo.

Profundidad (cm)	Tratamientos				CV% ^{**}
	1	2	3	4	
0 - 20	23.10 aB	47.42 aA	28.03 aB	24.97 aB	33.68
20 - 40	9.26 bA	7.04 bA	3.13 bA	4.36 bA	35.69
40 - 60	2.70 bA	2.64 bA	2.21 bA	2.39 bA	63.68
Total	35.06 B	57.10 A	33.37 B	31.72 B	29.86
CV% [*]	30.94	21.44	24.77	32.14	

En la columna, medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren entre sí al nivel de 5% por el test de Duncan.

En la línea, medias seguidas por la misma letra mayúscula no difieren entre sí al nivel de 5% por el test de Duncan.

* Coeficiente de variación en la línea.

** Coeficiente de variación en la columna.

elemento fueron equivalentes para todos los tratamientos (Cuadro 3). La presencia de raíces activas en las capas inferiores a 20 cm, por menor que sea su concentración, es de mucha importancia porque proporciona un volumen mayor del suelo que ha de ser explorado, especialmente en los suelos de "tabuleiro" que se caracterizan por su baja fertilidad (13).

Cuadro 3. Concentración de fósforo en el suelo.

Profundidad (cm)	Tratamientos			
	1	2	3	4
	$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$			
0 - 20	4	15	2	3
20 - 40	1	2	1	1
40 - 60	1	1	1	1

Los resultados obtenidos demuestran que independientemente de los tratamientos aplicados, el cacaoero presenta en promedio un sistema radicular superficial con un 78% de sus raíces concentradas en la capa de 0 - 20 cm (Cuadro 4), en tanto que las raíces menores que 5.0 mm se localizan en la capa organomineral del suelo, situada inmediatamente abajo del "litter". De un modo general, los tratamientos 3 y 4 presentaron una distribución relativamente uniforme de sus raíces en relación con las raíces del rectángulo central (no. 3) de cada capa del suelo (Cuadro 4). Los tratamientos 1 y 2 no presentaron ese tipo de comportamiento, probablemente debido a la mayor cantidad de materia orgánica en descomposición, derivada de los restos vegetales de la planta original. La localización de esta materia orgánica ocurrió de modo diferenciado en el área de influencia del sistema radicular del cacaoero y, consecuentemente, ahí hubo mayor concentración de raíces. La fertilización mineral tendría la tendencia de proporcionar una distribución relativamente uniforme del sistema radicular del cacaoero, debido a la forma de aplicación del abono en una superficie de 9.0 m² comprendida por cuatro plantas de cacao.

Raíz pivotante

Solamente ocurrieron diferencias significativas entre los tratamientos para las mediciones de la

Cuadro 4. Distribución porcentual de las raíces laterales del cacaoero por rectángulos en el perfil del suelo.

		Tratamiento 1					
		1	2	3	4	5	Total
Profundidad (cm)	0	6.64	9.96	23.84	10.31	15.13	65.88
	20	14.01	5.96	1.01	1.69	3.75	26.42
	40	0.92	1.83	0.75	3.85	0.36	7.70
	60						
		Tratamiento 2					
		1	2	3	4	5	Total
Profundidad (cm)	0	21.26	32.79	12.70	8.86	7.41	83.02
	20	2.60	1.51	1.31	4.78	1.93	12.33
	40	0.53	0.35	1.62	1.10	1.04	4.65
	60						
		Tratamiento 3					
		1	2	3	4	5	Total
Profundidad (cm)	0	9.65	11.78	35.14	12.31	15.12	84.00
	20	3.08	1.22	1.64	3.00	0.44	9.38
	40	4.40	0.34	0.64	0.33	0.91	6.62
	60						
		Tratamiento 4					
		1	2	3	4	5	Total
Profundidad (cm)	0	16.44	21.98	8.60	15.91	15.78	78.70
	20	3.60	1.45	5.23	1.98	1.49	13.75
	40	0.08	3.25	1.05	1.52	1.65	7.55
	60						

longitud de la raíz principal, altura de la bifurcación y volumen del tercio medio (Cuadro 5). El tratamiento 2 presentó mayor longitud en la raíz principal que los otros tratamientos. Este presentó el mayor volumen del tercio medio y la menor altura de bifurcación, difiriendo solamente de los tratamientos 3 y 4, respectivamente. La mayor longitud de la raíz principal del tratamiento 2 evidencia el efecto positivo de la fertilización mineral en suelos con alta densidad total. La raíz principal del cacaoero tiene su crecimiento restringido en suelos con densidad total arriba de 1.20 g·cm⁻³ (19) y los suelos de "tabuleiro" presentan en las profundidades de 30 - 75 cm una densidad total de 1.53 a 1.41 g·cm⁻³, respectivamente (6). La longitud de la raíz principal de los tratamientos 3 y 4 en relación con el tratamiento 1, demuestra que la fertilización mineral y la materia orgánica minimizaron los efectos negativos de la alta densidad total (Cuadro 5).

Cuadro 5. Efectos de los tratamientos de la fertilización sobre el tronco y la raíz principal del cacaotero.

Tratamientos*	VLTI	VLTR	VLSR	VLMR	VLIR	CPIV	BPIV
1	9 432 a ²	3 486 a	1 906 1 a	1 336 4 ab	243 9 a	80 00 b	48 32 ab
2	10 107 a	4 914 a	2 604 2 a	2 009 8 a	299 8 a	96 20 a	38 92 b
3	12 940 a	3 573 a	2 250 7 a	891 6 b	430 6 a	74 87 b	52 12 ab
4	12 797 a	4 306 a	2 465 7 a	1 405 7 ab	434 4 a	81 75 b	60 50 a
CV%	35 55	35 67	36 27	33 21	31 69	7 15	21 36

* VLT = volumen del tronco; VLTR = volumen total de la raíz principal; VLSR = volumen del tercio superior de la raíz principal; VLMR = volumen del tercio medio de la raíz principal; VLIR = volumen del tercio inferior de la raíz principal (cm); CPIV = longitud de la raíz principal; BPIV = altura de la bifurcación de la raíz principal (cm).

En la columna medias seguidas por la misma letra no difieren entre sí al nivel del 5% por el test de Duncan

En el área sin quema el empleo de máquinas pesadas provocó un aumento de la densidad total en la capa de 0 - 30 cm (20) que, probablemente, causó el mismo efecto en las capas subsiguientes del suelo. En ese mismo tipo de suelo con pasto *Brachiaria humidicola*, el uso de máquinas pesadas provocó un aumento acentuado de la densidad total (15) que varió de 1.47 a 1.62 g.cm⁻³ en la capa de 10 - 50 centímetros.

La penetración de raíces en el suelo puede ser impedida por la compactación del suelo, causando variaciones en las características estructurales de las raíces (7). En suelos compactos, la tasa de crecimiento radicular es reducida, mostrando un aumento del diámetro de las raíces (16, 17). Para que una raíz penetre en el suelo es necesario que desarrolle una presión elevada suficiente para dislocar y deformar la capa compacta. Así, las bajas presiones son suficientes solamente para producir variaciones estructurales en las raíces (16).

En condiciones de laboratorio una planta puede sobrevivir, absorber nutrientes, crecer y producir sin problemas mecánicos, siempre que tenga suplementos de agua y nutrientes (16). Entonces se puede deducir que una planta en crecimiento en suelo compacto tendrá un desarrollo perjudicial si el agua y nutrientes fuesen escasos. De cierto modo, esa deducción puede ser comprobada al analizar el volumen total de la raíz principal (Cuadro 5), no habiendo diferencias significativas entre los tratamientos. Todavía, los tratamientos 2 y 4, que llevaron fertilización mineral, presentaron en

promedio un aumento de 1080 cm³ en relación con los tratamientos 1 y 3. Estos presentaron un volumen total semejante en relación con la raíz principal, debido, probablemente, al uso de materia orgánica en el hoyo del plantío que disminuyó los efectos negativos de la alta densidad total al aumentar la capacidad de retención de agua y al proporcionar nutrientes.

Los efectos de las condiciones físicas y químicas del suelo sobre el crecimiento de la raíz principal del cacaotero demuestran la importancia de analizar esos efectos en cada área de la raíz. En este análisis no se debe olvidar que los efectos de la densidad total son más evidentes en el tercio inferior de la raíz, que es la zona de mayor fricción con el suelo en virtud de su crecimiento longitudinal. Sin embargo, los efectos de la fertilización mineral y de la materia orgánica pueden ser analizados en toda la extensión de la raíz principal.

Interacción entre raíz principal, raíces laterales y tronco

A pesar de que la diferencia no es significativa al nivel del 5%, los tratamientos 3 y 4 presentaron un volumen del tronco mayor que el de los tratamientos 1 y 2 (Cuadro 5). La correlación entre el volumen del tronco y el volumen total de la raíz principal fue altamente significativa ($\alpha = 0.01$) solamente para los tratamientos 3 y 4 (Cuadro 6). En el tratamiento 2, la correlación fue negativa y demostró que la fertilización química, al promover el crecimiento de

la raíz principal, influyó negativamente en el desarrollo del tronco. En ese mismo tratamiento, resultados semejantes ocurrieron en la correlación entre el volumen total de la raíz principal y la producción de materia seca de las raíces laterales de todo el perfil del suelo y solamente de la capa de 0 - 20 centímetros. Sin embargo, la producción de

materia seca de las raíces laterales del tratamiento 2 fue significativamente mayor que la producción de los otros tratamientos (Cuadro 2). Solamente en el tratamiento 4 hubo significancia en la correlación entre el volumen del tronco y la producción de materia seca de las raíces laterales de todo el perfil del suelo (Cuadro 6).

Cuadro 6. Correlación entre el volumen del tronco, el volumen total de la raíz principal, la producción de la materia seca de las raíces laterales del cacaotero de todo el perfil del suelo y de la capa (0 - 20 cm).

	Tratamientos							
	1		2		3		4	
	VLTR	VLI	VLTR	VLT	VLTR	VLT	VLTR	VLT
MS1	0.759	0.615	-0.934	0.611	0.363	0.433	0.914	0.950
MS2	0.929	0.622	-0.921	0.579	0.329	0.389	0.907	0.919
VLT	0.851		-0.842		0.994		0.994	

VLT = volumen del tronco; VLTR = volumen total de la raíz principal; MS1 = materia seca de las raíces laterales de todo el perfil del suelo; MS2 = producción de materia seca de las raíces laterales de la capa de 0 - 20 cm.

CONCLUSIONES

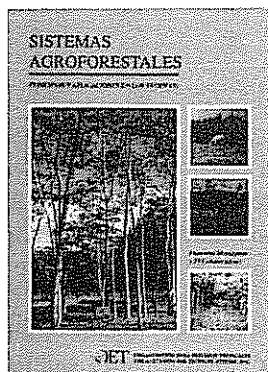
- Aumentos significativos de materia seca en las raíces laterales en la capa de 0 - 20 cm, con el tratamiento 2. Este mismo provocó un crecimiento significativo en longitud de la raíz principal.
- Debido al uso de máquinas pesadas en el área sin quema, la compactación del suelo provocó un aumento del volumen del tercio inferior de la raíz principal en los tratamientos 3 y 4. Todavía la fertilización mineral aumentó, en promedio, 1080 cm³ del volumen total de la raíz pivotante en relación con los tratamientos sin fertilización.
- Correlación entre el volumen del tronco y el volumen de la raíz principal fue altamente significativa ($\alpha = 0.01$) para los tratamientos 3 y 4.

LITERATURA CITADA

1. ALVIM, P.T. 1960. Las necesidades de agua del cacao. Turrialba (Costa Rica) 10(1):6-16.
2. CADIMA Z., A. 1970. Estudo do sistema radicular do cacauero em alguns tipos de solos da região cacauera do Sul da Bahia. Ilhéus, BA, Bra., CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico no. 5. 28 p.
3. CADIMA Z., A. 1971. Efeitos da água subterrânea sobre a produção de cacau. Cacau Atualidades (Brasil) 8(3):8-10.
4. CADIMA Z., A.; CORAL, F.J. 1972. Sistema radicular do cacauero em duas unidades de solos do Estado de São Paulo. Revista Theobroma (Bra.) 2(4):16-22.
5. CADIMA Z., A.; ALVIM, P.T. 1973. Algunos factores del suelo asociados con la productividad del cacaotero en Bahia, Brasil. Revista Theobroma (Bra.) 3(2):13-26.
6. CADIMA Z., A. 1984. Condutividade hidráulica de um Oxisol (Haplorthox) variação tabuleiro. Revista Theobroma (Bra.) 14(2):149-157.
7. FELDMAN, L.J. 1984. Regulation of root development. Annual Review of Plant Physiology 35:223-242.
8. FROTA, P.C.E. 1972. Notas sobre o clima da região cacauera da Bahia. Cacau Atualidades (Brasil) 9(2):17-24.
9. HARDY, F. 1944. Some soil relations of the root system of cacao: Further results of investigations in Trinidad. Tropical Agriculture (Tri.) 21(10):184-195.

10. HARDY, F. 1961. Manual de cacao. Turrialba, C.R., IICA. 439 p.
11. KUMMEROW, J.; KUMMEROW, A.; ALVIM, P.T. 1981. Root biomass in a mature cacao (*Theobroma cacao* L.) plantation. *Revista Theobroma (Bra.)* 11(1):77-85.
12. KUMMEROW, J.; KUMMEROW, M.; SILVA, W.S. DA. 1982. Fine-root growth dynamics in cacao (*Theobroma cacao* L.). *Plant and Soil* 65:193-201.
13. LEAO, A.C.; SILVA, L.F. DA. 1976. Levantamento detalhado dos solos da Estação Experimental "Gregório Bondar". Ilhéus, BA, Bra., CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico no. 40. 24 p.
14. McCREARY, C.W.R.; McDONALD, J.A.; MULLOON, V.I.; HARDY, F. 1943. The root system of cacao: Results of some preliminary investigations in Trinidad. *Tropical Agriculture (Tri.)* 20(11):207-220.
15. RODRIGUES, A.C. DA G.; CADIMA Z., A. 1991. Efeito da intensidade de pastejo sobre o sistema radicular de pastagem. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 26(3):439-445.
16. RUSSEL, R.S.; GOSS, M.J. 1974. Physical aspects of soil fertility: The response of roots to mechanical impedance. *Netherland Journal of Agriculture Science* 22:305-318.
17. RUSSEL, R.S. 1977. Plant root systems: Their function and interaction with the soil. London, McGraw-Hill. 298 p.
18. SILVA, J.V. DA. 1960. Contribution for the study of root system development on coffee tree and cacao tree in some soils of Sao Tomé. *Estudos Agronomicos (Portugal)* 1:225-257.
19. SILVA, L.F. DA.; PEREIRA, C.P.; MELO, A.A.O. 1977. Efeito da compactação do solo no desenvolvimento de plântulas de cacau (*Theobroma cacao* L.) e na penetração das raízes. *Revista Theobroma (Bra.)* 7(1):13-19.
20. SILVA, L.F. DA. 1983. Influência de cultivos esistemas de manejo nas modificações edáficas dos Oxisols do tabuleiro (Haplorthox) do Sul da Bahia. In *Congresso Brasileiro de Ciência do Solo (19., 1983, Curitiba, PR, Bra.)*. Programa e Resumos. Campinas, SP, SBCS. p. 103-104.
21. VETTORI, L. 1960. Método de análise de solo. Rio de Janeiro, Bra., Ministério da Agricultura, EPFS. 24 p.

LIBRO RECOMENDADO



US\$30.00

Sistemas Agroforestales: Principios y Aplicaciones en los Trópicos. F. Montagnini et al. *Organización de Estudios Tropicales.* 622 p. ISBN 9968-9717-0-7.

Este libro de texto trata con amplitud, en sus ocho capítulos, aspectos ecológicos y descriptivos de los principales sistemas agroforestales. Estos constituyen una respuesta positiva ante el avance de la deforestación y el deterioro ambiental.

Ver lista de publicaciones disponibles para la venta y boleta de solicitud en la última sección de la revista Turrialba.

Some Agronomic and Nutritional Characteristics of *Canavalia* sp.¹

R. Bressani*, L. Estrada-Ligorria*, A. García-Soto*

ABSTRACT

A collection of 26 cultivars of *Canavalia* sp. was analyzed for protein and selected amino acids. The samples were also used to obtain information on yield components and the effect of date of planting. In the original samples, moisture content varied from 9.9 to 13.6 g/100 g; protein, from 21.6 to 23.6 g/100 g; lysine from 1.30 to 2.35 g/100 g; methionine from 0.18 to 0.24 g/100 g; and tryptophan from 0.14 to 0.27 g/100 g. Lysine and tryptophan, but not methionine, were correlated to protein content. Multiple regression analysis of the agronomic data of the seed harvested from the 26 cultivars indicated seed weight, seed per pod, and pods per plant, in that order, to be the main yield contributors. In the agronomic trial, protein quality of the 26 cultivars harvested and cooked, varied from protein efficiency ratio (PER) of 0.93 to 1.61. Percent protein was negatively related, although not statistically significant, to protein quality. Date of planting did not influence yield or protein quality, although flowering was significantly effected, and there was some influence on protein content. The results obtained suggest *Canavalia* to have a good yield potential. Further studies are thus suggested to find uses as human food or animal feed.

COMPENDIO

Se analizó una colección de 26 cultivares de *Canavalia* sp. por su contenido en proteína, lisina, metionina y triptófano. Asimismo se evaluó el rendimiento de la semilla y se estudió el efecto de la época de siembra. En muestras originales la humedad varió de 9.9 g/100 g a 13.6 g/100 g; la proteína, de 21.6 g/100 g a 23.6 g/100 g; la lisina, de 1.30 g/100 g a 2.35 g/100 g; la metionina, de 0.18 g/100 g a 0.24 g/100 g; y el triptófano, de 0.14 g/100 g a 0.27 gramos por cada 100 gramos. La lisina y el triptófano, pero no el contenido de metionina, se correlacionaron con el de proteína. Análisis estadístico de regresión múltiple de los datos agronómicos de la semilla cosechada de los 26 cultivares, indicó que el peso de semilla, el número de semillas por vaina y el de vainas por planta fueron componentes de rendimiento más importantes, en ese orden. En la prueba de producción, la calidad de la proteína de los 26 cultivares cosechados y cocidos, varió de un índice de eficiencia de proteína (PER) de 0.93 a 1.61. El porcentaje de proteína se correlacionó negativamente con la calidad, aunque la fecha de floración fue afectada significativamente y hubo influencia sobre el contenido de proteína. De los resultados observados, *Canavalia* sp. tiene un potencial de rendimiento atractivo, por lo que se sugieren estudios para su uso en alimentación humana o animal.

INTRODUCTION

In Central America although there are a number of non-conventional grain legumes that may have some value as food or feed, they have not been extensively studied. Such is the case of *Canavalia* (*Canavalia* sp.), which are grown in a

limited way, mainly as a cover crop. When seeds are harvested, they are roasted to prepare water infusions to be used as coffee. Good descriptions of *Canavalia* sp. are found in the Tropical Products Institute (TPI) literature (9), National Academy of Science (NAS) (12), and others (1). Previous reports from the Institute of Nutrition of Central America and Panama (INCAP) dealt with basic chemical and nutritional data on *Canavalia* (5) and on seed protein and starch extraction (11). These studies have suggested *Canavalia* seeds to have economic potential if systematically studied. This paper presents some

¹ Received for publication 8 December 1988.

* This work was carried out with funds from the Bean/Cowpea Program CRSP by the Division of Food and Agricultural Science, Institute of Nutrition of Central America and Panama (INCAP), P.O. Box 1188, 01901 Guatemala, Guatemala.

agronomic characteristics and chemical and nutritional data for 26 cultivars. The results of studies on date of planting, yield, and nutritive value are also reported.

MATERIALS AND METHODS

Around 100 g of each of 26 cultivars of *Canavalia* sp. were collected from various sources in Central America and Colombia, and a subsample of each was taken for chemical analysis. The rest was used for agronomic studies and to produce enough seeds for nutritional evaluation.

All 26 cultivars, 25 of which were *Canavalia ensiformis* and one *Canavalia gladiata*, were planted at an experimental site located at 266 masl in the Pacific area of Guatemala. The seeds of each cultivar were planted in rectangular experimental plots 0.80 x 2.40 m, planting one seed at 80 cm apart in the rows and between rows, for a total of eight plants per experimental plot. Each plant was taken as a replication. A discard trip 2 m wide was provided between plots.

New seeds were planted four days later to replace those that had not germinated, so that measurements were taken of all eight plants per experimental plot per cultivar. At the time of planting, 30 g of 15 N, 15 P and 15 K fertilizer was applied per seed covered with soil, and had the *Canavalia* seed placed on top.

At harvest, data were collected on number of pods per plant, and number and weight of seeds per pod.

In a second agronomic study, a local cultivar of *C. ensiformis* (No. 24872) was used to determine the effect of date of planting on yield, protein content, and protein quality. Experimental plots measured 34 m² (5.4 x 6.3 m) where 56 seeds were sown at a distance in rows and between rows of 90 cm, at monthly intervals from June 4 to October 22; each plot was replicated twice. Data were obtained on flowering and yield per experimental plot. Seed weight was also obtained by weighing four replicates each of 25 seeds.

Moisture and protein content (N x 6.25) of seed from the 26 cultivars and from the second study were determined by the ADAC procedures (2). Lysine and methionine content of the 26 cultivars were determined using microbiological assays with Difco

media and *Leuconostoc mesenteroides* as the test organism (16), and tryptophan by the Opienska-Blauth *et al.* (13) method, and modified by Hernández and Bates (8).

For the biological assays of protein quality, protein efficiency (PER) (2) and net protein (NPR) ratios (3) were determined in the grain samples used in both experiments. Samples of seeds (1 kg) were soaked overnight in four liters of water. The soaking water was discarded and fresh water added (three liters) before cooking in the autoclave, at 15 lb pressure for 50 minutes. After cooking, the water was discarded and the wet seeds were ground and dried in a convection oven at 60°C. This process was carried out to eliminate, as far as possible, the toxic substances present in *Canavalia*. After drying, the samples were further ground, passed through a 60-mesh sieve and analyzed for total nitrogen (2). For the protein efficiency assays, diets were prepared to provide 100 g kg⁻¹ protein (N x 6.25) from *Canavalia* seeds. They were supplemented with 40 g kg⁻¹ mineral mixture (7), 50 g kg⁻¹ refined cotton-seed oil, and 10 g kg⁻¹ cod liver oil. The diets were supplemented with a complete B-vitamin mixture (10) and 50 ml kg⁻¹ added. Feed and water were provided *ad libitum* to six 22-day-old rats (Wistar strain) assigned to each experimental group, and the assay was carried out for 28 days. Feed intake and weight changes were measured every seven days. The values at 14 days were used to estimate NPR. A casein diet at 100 g kg⁻¹ protein level was used as reference, and a nitrogen-free diet was used for the NPR assay.

RESULTS AND DISCUSSION

Results on protein (N x 6.25) lysine methionine and tryptophan content of the original 26 cultivars samples are presented in Table 1. Protein content averaged 25.5 g/100 g with values ranging from 21.6 to 32.6 g/100 g, a variability which is also found in other grain legumes (4). Average values of lysine, methionine tryptophan and were 1.78, 0.20 and 0.20 g/100 g. There was little variability in methionine content with no correlation to protein content; while protein and lysine, and protein and tryptophan were positively correlated. These relationships are similar to those which have been reported for other grain legumes (4).

Table 1. Moisture, protein, lysine, methionine, and tryptophan percentage (g/100 g), in seeds from 26 *Canavalia* cultivars.

Cultivar No.	Moisture	Protein (N x 6.25)	Lysine	Methionine	Tryptophan
24969 (1)	13.6	25.6	1.82	0.21	0.20
24870 (2)	11.0	28.5	1.87	0.21	0.27
24871 (3)	11.9	24.5	1.60	0.24	0.23
24872 (4)	12.5	28.5	1.89	0.20	0.22
24873 (5)	10.9	32.6	2.00	0.22	0.22
24874 (6)	11.8	22.3	2.01	0.20	0.21
24875 (7)	11.0	26.6	1.85	0.21	0.22
24876 (8)	11.4	22.6	1.59	0.20	0.21
24877 (9)	10.8	21.7	1.41	0.19	0.14
24878 (10)	11.2	25.1	1.72	0.20	0.20
24879 (11)	11.1	27.8	2.01	0.22	0.19
24880 (12)	11.3	25.9	2.35	0.20	0.18
24881 (13)	10.8	25.8	2.01	0.21	0.20
24882 (14)	10.9	24.3	2.02	0.21	0.19
24883 (15)	10.8	24.1	1.95	0.19	0.21
24884 (16)	10.9	24.3	1.79	0.21	0.22
24885 (17)	10.6	31.0	1.92	0.22	0.21
24886 (18)	11.0	26.0	1.79	0.21	0.22
24887 (19)	11.0	26.1	1.69	0.22	0.18
24888 (20)	11.4	26.6	1.54	0.20	0.22
24889 (21)	10.8	26.4	1.49	0.20	0.23
24890 (22)	10.8	24.7	1.77	0.20	0.20
24891 (23)	9.9	21.6	1.30	0.18	0.16
24892 (24)	11.3	22.9	1.55	0.19	0.18
24893 (25)	10.6	24.5	1.65	0.20	0.17
24894 (26)	10.8	23.6	1.78	0.20	0.20
\bar{X}	11.16	25.5	1.78	0.20	0.20
S D	0.697	2.64	0.23	0.01	0.02

Information on some yield components of the 26 *Canavalia* cultivars is presented in Table 2. The number of pods per plant shows high variability, ranging from 5.6 to 20.6 among all cultivars, with a high coefficient of variation. A high variability among cultivars was also evident in the average seed yield per plant (field dry weight), which varied from 109.5 to 408.5 g per plant. However, the variability in the number of seeds per pod was lower, ranging from 5.8 to 12.3, as well as the average seed weight which varied from 1.53 to 2.86 grammes. Statistical analysis of the data showed highly significant differences in pods per plant, number of seeds, total seed weight, seeds per pod, and weight per seed. With these data, multiple regression was calculated in which yield (total seed weight per plant) = -417.87 ± 11.48 (pods per plant) ± 0.7929 (No. of seeds per plant) ± 21.97 (seeds per pod) ± 96.79 (weight per seed). This equation suggests that seed weight, seeds per pod and pods per plant are important components for yield. Table 3 presents the coefficient of correlation between

some agronomic variables. A high significant correlation ($r = 0.985$) was found between number of pods and number of seeds; and a negative relationship, although not significant, between number of pods and seeds per pod, as well as between seeds per pod, and seed weight. Total seed weight was highly correlated with number of pods ($r = 0.8781$), with number of seeds ($r = 0.9695$) but not with seeds per pod ($r = 0.0371$) or with weight per seed ($r = 0.3495$).

These results suggest that there is sufficient genetic variation in *Canavalia* to select cultivars that have a high yield potential.

Table 4 presents the protein (N x 6.25) content of the raw samples obtained from the field experiment. These values differed from some cultivars when compared to the protein content of the original samples. The table also shows the protein of the processed samples, as well as the dried matter yield after processing, obtained from a weight of 825 g of

Table 2. Yield components of *Canavalia* sp.

Cultivar No.*	Pods/plant	Seeds/plant	Seed yield/plant** (g)	No. seeds/pod**	Av. seed weight (g)
24869 (1)	13.9 ± 2.7	139.2 ± 31.7	237.5 ± 56.0	10.0 ± 0.9	1.71 ± 0.09
24870 (2)	13.7 ± 1.7	146.9 ± 29.7	247.1 ± 51.9	10.6 ± 1.3	1.68 ± 0.10
24871 (3)	20.6 ± 10.9	227.7 ± 128.9	408.5 ± 219.7	9.6 ± 1.1	1.81 ± 0.16
24872 (4)	14.6 ± 6.3	158.9 ± 68.1	313.5 ± 144.3	11.0 ± 1.2	1.94 ± 0.13
24873 (5)	18.6 ± 6.4	192.5 ± 61.4	366.4 ± 117.9	10.4 ± 1.2	1.91 ± 0.14
24874 (6)	16.6 ± 6.9	158.4 ± 62.9	279.7 ± 102.2	9.8 ± 1.4	1.78 ± 0.17
24875 (7)	13.5 ± 2.9	144.5 ± 39.9	305.4 ± 70.4	11.5 ± 1.2	1.97 ± 0.06
24876 (8)	12.4 ± 5.4	143.1 ± 69.9	259.0 ± 113.1	11.1 ± 4.1	1.86 ± 0.32
24877 (9)	10.2 ± 5.2	86.2 ± 45.1	218.1 ± 97.5	8.3 ± 1.0	2.86 ± 0.19
24878 (10)	5.9 ± 1.8	64.5 ± 22.7	110.0 ± 38.7	10.8 ± 1.1	1.72 ± 0.34
24879 (11)	9.1 ± 4.2	91.5 ± 38.2	143.0 ± 71.5	10.4 ± 2.6	1.57 ± 0.34
24880 (12)	6.4 ± 2.2	79.0 ± 34.3	130.4 ± 63.9	12.0 ± 1.5	1.83 ± 0.13
24881 (13)	5.6 ± 2.3	64.1 ± 25.3	120.6 ± 43.3	11.2 ± 1.3	1.91 ± 0.15
24882 (14)	5.9 ± 1.9	66.6 ± 23.8	113.2 ± 45.6	12.0 ± 1.6	1.61 ± 0.08
24883 (15)	10.2 ± 1.7	122.7 ± 23.8	197.9 ± 41.8	11.2 ± 1.6	1.69 ± 0.48
24884 (16)	8.6 ± 4.3	95.9 ± 50.0	169.0 ± 106.5	11.2 ± 1.3	1.89 ± 0.11
24885 (17)	9.5 ± 2.1	106.0 ± 26.3	212.9 ± 49.8	10.8 ± 1.8	1.73 ± 0.32
24886 (18)	14.9 ± 4.8	164.4 ± 57.3	285.0 ± 104.8	12.3 ± 0.0	1.87 ± 0.11
24887 (19)	13.9 ± 4.0	170.2 ± 48.4	316.5 ± 85.7	10.6 ± 1.5	1.87 ± 0.26
24888 (20)	19.5 ± 7.0	204.9 ± 71.4	388.4 ± 157.6	10.6 ± 1.5	1.87 ± 0.26
24889 (21)	20.4 ± 11.0	113.6 ± 60.3	211.1 ± 120.7	5.8 ± 1.3	1.86 ± 0.22
24890 (22)	15.2 ± 3.9	183.6 ± 70.0	341.4 ± 117.4	12.0 ± 1.7	1.84 ± 0.22
24891 (23)	15.9 ± 4.1	178.0 ± 87.7	395.9 ± 165.2	11.2 ± 2.1	2.42 ± 1.77
24892 (24)	6.7 ± 5.8	72.2 ± 64.2	114.7 ± 106.6	10.8 ± 1.4	1.53 ± 0.28
24893 (25)	5.6 ± 2.7	63.0 ± 29.5	109.5 ± 55.6	11.2 ± 2.1	1.73 ± 0.31
24894 (26)	8.4 ± 3.2	92.3 ± 30.5	178.7 ± 56.9	10.9 ± 1.7	1.97 ± 0.20

* All entries were *C. ensiformis* with the exception of No. 9 which was *C. gladiata*.

** Average of eight replications.

Table 3. Correlation coefficients for some agronomic variables in *Canavalia* sp.

	No. of seeds	Seeds per pod	Mean seed weight (g)	Total seed weight (g)
No. of pods	0.895	-0.355	0.199	0.878
No. of seeds	-	0.077	0.133	0.969
Seeds per pod	-	-	-0.307	0.037
Mean seed weight	-	-	-	0.349

raw seed. With respect to protein, the processed samples had a higher protein content, in all cases except for samples 24871 and 24879. This may be due to greater losses in carbohydrates and minerals rather than losses in nitrogen compound, as well as to

possible differences in moisture content. The recovery of dried matter due to the cooking process used ranged from 72.7% (24869) to 85.8% (24893). Similar observations have been made with common beans (*Phaseolus vulgaris*) (6).

Table 5 summarizes the protein quality of the 26 cultivars with a PER variation of 0.93 to 1.64 and a NPR varying from 1.88 to 2.45, which is important. Although this could be attributed to the amino acid level present in the protein, particularly methionine, it could also be due to residual levels of the toxic substances in *Canavalia* after processing, information on which is not yet readily available. The correlation between percentage protein and protein quality was negative ($r = -0.31$), but not statistically significant for all *C. ensiformis* cultivars. In this correlation the values for *C. gladiata* were not included.

These data suggest it is thus possible to select material with a higher protein quality. In this series of

tests, unlike previous trials with unprocessed grains (4, 15), there were no deaths and the animals used showed no obvious signs of ill-health or growth impediments.

Data on the effect of date of planting are presented in Table 6. Differences in yield, seed weight, and protein content were not statistically significant; however, days to flower was statistically significant, and it decreased from June to October, without affecting yield. However, protein content of the grains from plants sown on October 22 was lower than that of seeds sown on previous dates. Protein quality of the seed harvested in this study is shown in Table 7. The values are similar to those reported for the 26 cultivars, and there is no tendency for PER to vary with date of planting. However, as presented in Table 8, grouping the samples on the basis of their average protein content indicates that higher quality is obtained with the sample with lower protein content, as shown for the correlation with the 25 *C. ensiformis* cultivars. This observation has also been reported for other grain crops, whether cereals or grain legumes, and is due to their higher concentration of essential amino acids per gramme of protein in samples with lower levels of total protein. Higher protein represents an accumulation of nitrogen, not necessarily a greater richness in essential amino acids, particularly the one limiting protein quality, such as methionine in the case of grain legumes (4).

Results of this research show the high yield of *Canavalia*, and efforts should be made to select and

improve cultivars if further research proves it to have a place in feeding systems.

Table 4. Effect of *Canavalia* processing on protein content (N x 6.25) and dried matter recovered.

Cultivar No.	Protein porcentaje raw*	cooked	Recovery of dried matter after cooking (%)
24869 (1)	23.8	25.9	72.7
24870 (2)	22.8	26.1	81.8
24871 (3)	26.4	26.7	83.0
24872 (4)	24.4	26.3	83.6
24873 (5)	29.7	30.6	83.0
24874 (6)	22.6	26.5	82.4
24875 (7)	26.6	29.3	82.4
24876 (8)	23.9	26.9	83.6
24877 (9)	21.0	22.7	81.2
24878 (10)	22.2	25.5	82.4
24879 (11)	28.8	28.1	83.6
24880 (12)	24.4	25.9	84.0
24881 (13)	26.6	29.1	82.4
24882 (14)	25.2	27.4	83.2
24883 (15)	25.8	27.6	81.8
24884 (16)	26.0	27.8	78.2
24885 (17)	26.3	28.3	82.4
24886 (18)	27.1	28.7	74.5
24887 (19)	26.5	29.1	84.2
24888 (20)	26.3	29.0	74.5
24889 (21)	28.7	30.8	83.6
24890 (22)	26.8	28.6	84.8
24891 (23)	26.2	29.6	84.2
24892 (24)	23.5	24.6	83.4
24893 (25)	27.5	28.2	85.8
24894 (26)	25.6	26.8	83.0
Ave ± SD	25.6 ± 2.1	27.5 ± 1.8	81.9 ± 3.3

* Air dried basis.

LIBRO RECOMENDADO

LOS BANCOS GENÉTICOS
Y LA
ALIMENTACIÓN MUNDIAL



US\$12.00

Los Bancos Genéticos y la Alimentación Mundial. D. Plucknett, N. Smith, J. Williams y N. Anishetty. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura/Centro Internacional de Agricultura Tropical. 260 p. ISBN 92-9039-200-2.

Traducción de la versión inglesa *Gene Banks and the World's Food*. Trata uno de los temas de mayor interés actual como es la biotecnología. Su mensaje es claro: la conservación y el aprovechamiento del acervo genético en beneficio de la humanidad sólo serán posibles a través del esfuerzo global de científicos y políticos.

Ver lista de publicaciones disponibles para la venta y boleta de solicitud en la última sección de la revista Turrialba.

Table 5. Protein quality of processed seeds from 26 *Canavalia* cultivars.

Cultivar No.	Average weight gain (g)	Average diet intake (g)	PER*	NPR**
24869 (1)	43 ± 6.4	267 ± 28.0	1.64 ± 0.37	2.28 ± 0.18
24870 (2)	39 ± 10.9	261 ± 55.0	1.44 ± 0.18	2.24 ± 0.29
24871 (3)	42 ± 9.4	267 ± 42.6	1.59 ± 0.11	2.45 ± 0.08
24872 (4)	29 ± 8.5	219 ± 42.9	1.33 ± 0.19	2.31 ± 0.26
24873 (5)	31 ± 11.8	240 ± 43.5	1.23 ± 0.28	2.10 ± 0.35
24874 (6)	44 ± 7.8	289 ± 30.6	1.50 ± 0.21	2.29 ± 0.32
24875 (7)	35 ± 7.9	245 ± 21.6	1.36 ± 0.25	2.29 ± 0.24
24876 (8)	39 ± 6.2	264 ± 34.0	1.45 ± 0.11	2.29 ± 0.25
24877 (9)	22 ± 3.4	217 ± 25.5	1.02 ± 0.10	2.23 ± 0.33
24878 (10)	37 ± 3.8	260 ± 11.1	1.38 ± 0.13	1.89 ± 0.33
24879 (11)	34 ± 8.6	256 ± 35.9	1.27 ± 0.20	2.15 ± 0.18
24880 (12)	29 ± 5.4	228 ± 26.6	1.27 ± 0.16	2.11 ± 0.17
24881 (13)	37 ± 12.5	259 ± 48.2	1.30 ± 0.22	2.07 ± 0.30
24882 (14)	34 ± 8.6	255 ± 43.2	1.23 ± 0.17	2.26 ± 0.31
24883 (15)	29 ± 5.4	258 ± 25.7	1.48 ± 0.22	2.18 ± 0.25
24884 (16)	37 ± 12.5	283 ± 34.0	1.50 ± 0.10	2.30 ± 0.29
24885 (17)	31 ± 5.9	262 ± 24.9	1.31 ± 0.18	2.37 ± 0.23
24886 (18)	37 ± 7.3	258 ± 33.3	1.37 ± 0.16	2.14 ± 0.33
24887 (19)	45 ± 6.8	245 ± 47.1	1.21 ± 0.34	2.29 ± 0.14
24888 (20)	35 ± 7.2	233 ± 26.9	1.24 ± 0.30	2.10 ± 0.35
24889 (21)	21 ± 5.3	213 ± 15.3	0.93 ± 0.17	2.00 ± 0.44
24890 (22)	25 ± 7.8	239 ± 35.1	1.00 ± 0.20	1.89 ± 0.36
24891 (23)	34 ± 6.6	252 ± 34.8	1.25 ± 0.16	1.88 ± 0.22
24892 (24)	33 ± 6.6	211 ± 28.2	1.44 ± 0.30	2.24 ± 0.25
24893 (25)	35 ± 12.3	254 ± 50.3	1.35 ± 0.25	2.24 ± 0.26
24894 (26)	43 ± 5.9	283 ± 18.1	1.50 ± 0.14	2.39 ± 0.24
Casein	127 ± 13.4	441 ± 23.9	2.83 ± 0.17	3.81 ± 0.22

* PER = Protein efficiency ratio.

** NPR = Net protein ratio

Table 6. Effect of planting date on some plant characteristics.

Planting date	Replicate No.	Days to flower	Germinated seeds	Yield g/plot	Yield g/plant	Yield g/56 plants	Seed weight (g)	Moisture (%)	Protein (%)
June 4	1	81	51	10 503	205.9	11 533	1.58	13.4	25.5
	2	76	42	6 900	164.3	9 200	1.42	13.3	25.5
June 2	1	80	47	8 205	174.6	9 776	1.59	12.8	25.3
	2	68	52	10 764	207.0	11 592	1.71	13.7	24.0
July 31	1	62	51	7 786	152.7	8 549	1.76	13.1	25.5
	2	62	56	8 492	151.6	8 492	1.81	13.2	24.4
August 27	1	60	55	9 053	164.6	9 218	1.76	13.4	25.1
	2	59	53	8 181	154.4	8 644	1.80	13.6	25.1
September 24	1	56	55	8 350	151.8	8 502	1.73	13.0	25.6
	2	62	52	7 606	146.3	8 191	1.62	13.4	25.0
October 22	1	55	56	9 224	164.7	9 224	1.73	13.2	23.4
	2	58	51	8 890	176.1	9 860	1.67	13.3	22.7

Experimental plots: 32 square meters

Table 7. Protein quality of *Canavalia* seed harvested from different planting date (cultivar 24872).

Planting date	Protein in diet (%)	Average weight gain (g)	Average diet consumed (g)	PER*
June 4	10.3	28 ± 7.0	217 ± 37.5	1.26 ± 0.16
July 2	10.1	32 ± 9.3	237 ± 46.0	1.33 ± 0.21
July 31	10.2	27 ± 6.5	211 ± 30.5	1.21 ± 0.20
August 27	10.1	27 ± 5.3	227 ± 25.6	1.19 ± 0.17
September 24	10.1	26 ± 7.4	202 ± 29.3	1.28 ± 0.30
October 22	10.2	31 ± 8.8	220 ± 31.0	1.39 ± 0.20
Casein	10.2	110 ± 15.3	393 ± 28.5	2.74 ± 0.32

Average initial weight: 45 g

Experimental period: 28 days

8 animals/group

* PER = Protein efficiency ratio

Table 8. Effect of protein level in seed on protein efficiency ratio.

Level of protein in seed	Average weight gain (g)*	Average food consumed (g)	PER
25.5	28 ± 7.3	225 ± 35.4	1.24 ± 0.19
25.0	27 ± 7.0	209 ± 32.9	1.27 ± 0.22
24.2	28 ± 4.4	211 ± 25.3	1.32 ± 0.13
23.0	34 ± 9.7	227 ± 31.8	1.45 ± 0.25

* On 10% protein diets

LITERATURE CITED

- ADAMS, M.W.; COYNE, D.P.; DAVIS, J.H.; GRAHAM, P.H.; FRANCIS, C.A. 1985. Common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). In Grain Legume Crops. R.J. Summerfield, E.H. Roberts (Eds.). London, William Collins. p. 433-476.
- AOAC (THE ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). 1975. Official Methods of Analysis. 12 ed. Washington, D.C.
- BENDER, A.E.; DOELL, B.H. 1957. Note on the determination of Net Protein Utilization by carcass analysis. British Journal of Nutrition 11:137-143.
- BRESSANI, R.; ELIAS, L.G. 1979. Improvement of the nutritional quality of food legume. Food and Nutrition Bulletin (UNU) 1:23-34.
- BRESSANI, R.; GOMES-BRENEZ, R.; GARCIA-SOTO, A.; ELIAS, L.G. 1987. Chemical composition, amino acid content and protein quality of *Canavalia* sp. seeds. Journal of the Science of Food and Agriculture (Inglaterra) 40:17-23.
- BRESSANI, R.; GARCIA-SOTO, A.; ESTRADA, L. 1988. Preliminary study of the factors that determine nutrient composition of bean-cooking broth. Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition. Accepted for publication.
- HEGSTED, D.M.; MILLS, R.C.; ELVEHJEM, C.A.; HART, E.B. 1941. Choline in the nutrition of chicks. Journal of Biological Chemistry (EE.UU.) 138:459-466.
- HERNANDEZ, H.; BATES, L. 1969. A modified method for rapid tryptophan analysis in maize. International Center for the Improvement of Maize and Wheat (México). Research Bulletin no. 13.
- KAY, D.E. 1979. Food legume. G. Tropical Products Institute (Inglaterra) no. 3.
- MANNA, L.; HAUGE, J.M. 1953. A possible relationship of vitamin B₁₂ to orotic acid. Journal of Biological Chemistry (EE.UU.) 202:91-96.
- MOLINA, M.R.; ARGUETA, C.E.; BRESSANI, R. 1974. Extraction of nitrogenous constituents from the Jack Bean (*Canavalia ensiformis*). Journal of Agricultural and Food Chemistry (EE.UU.) 22:309-312.

12. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. 1979. Tropical legumes: Resources for the future. Washington, D.C.
13. OPIENSKA-BLAUTH, J.; CHARENZINSKI, M.; BERBEC, M. 1963. A new rapid method of determining tryptophan. *Res. Anal. Biochem.* 6-69.
14. ORRU, A.; DEMEL, V.C. 1941. Physiological and anatomical-pathological observations on rats fed the seed of *Canavalia ensiformis*. *Quaderni della Nutrizione* 7:273-290.
15. ROSENTHAL, C.A. 1977. Preparation and calorimetric analysis of L-Canavanine. *Analytical Biochemistry* (EE.UU.) 77:147-151.
16. STEELE, B.F.; SAUBERLICH, H.E.; REYNOLDS, M.S.; BAUMAN, C.A. 1949. Media for *Leuconostoc mesenteroides* P-60 and *Leuconostoc citrovorum* 8081. *Journal of Biological Chemistry* (EE.UU.) 177:533-544.

RESEÑA DE LIBROS

BEETS, W.C. 1990. Raising and sustaining productivity of smallholder farming systems in the tropics. Alkmaar, Holland. AgBé Publishing, 738 p.

En este documento se presentan en forma balanceada los aspectos físicos, económicos y sociales que determinan el nivel de producción y su sostenibilidad en fincas de pequeños agricultores en las regiones tropicales. En él se resumen veintidós años de experiencia del autor en el tema, principalmente en Africa y Asia.

Como mecanismos para elevar y mantener la productividad de los sistemas utilizados en las fincas de pequeños agricultores, se recomiendan la diversificación del sistema y la optimización de la mano de obra e insumos disponibles en la finca. Se critica fuertemente la dependencia de recursos externos al sistema, fenómeno que se asocia con la revolución verde y que funciona con cierto grado de sostenibilidad cuando las condiciones del sistema son buenas (por ejemplo, suelos fértiles, fincas grandes, disponibilidad de capital, otros). El autor enfatiza la necesidad de lograr rendimientos sostenidos en el tiempo, lo cual implica que el sistema debe ser ambientalmente balanceado, aunque sea económicamente marginal a corto plazo.

La multitud de ejemplos presentados en el libro muestra la enorme influencia que tienen ciertas

agencias internacionales y organismos financieros en la toma de decisiones en los países en desarrollo. La "Revolución Verde" y la Alianza para el Progreso de los años cincuenta y sesenta, las ISI impulsadas por la Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL) en los años setenta, el desarrollo rural integrado de la década pasada y el neoliberalismo propuesto en los años noventa por el Banco Interamericano de Desarrollo (BID), el Fondo Monetario Internacional (FMI) y el Banco Mundial (BM), son claros ejemplos. No es de extrañar, entonces, que los problemas que atañen a los pequeños agricultores no hayan sido considerados, debido a la poca importancia política de ellos.

El libro es valioso para estudiantes y profesionales que tengan que lidiar con el desarrollo agrícola del Tercer Mundo, pues se resumen numerosas publicaciones poco asequibles para personas que no cuentan con tiempo suficiente para buscarlas. La experiencia narrada por Beets deberá ser documentada a corto plazo con ejemplos de América Latina. El libro puede ordenarse a AgBé Publishing, P.O. Box 9125, 1800 E.C. Alkmaar, The Netherlands (US\$65 + costo de envío).

ALFREDO ALVARADO
CENTRO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS,
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SAN JOSÉ, COSTA RICA

Efectos Comparativos en Cultivos Intensivos sobre Nutrientes en Oxisoles Desforestados¹

J.A. Diez*, A. Polo*, C. Cerri**, F. Andreux***

ABSTRACT

The purpose of this paper is to determine the effect of different treatments on pasture, cacao and cacao and rubber on recently deforested Amazonian oxisols by electro-ultrafiltration. Results, after nine years of field work, showed that the cultivated pasture maintained soil fertility levels, if there is a moderate application of N-P-K fertilizer. The application of moderate amounts of K to the pastures raised the level of available K, but not in the reserve, as these soils are unable to fix nitrogen. The response to moderate P fertilization (40 kg/ha/yr) was unexpectedly satisfactory when applied in conjunction with CaO. Soil N tended to mineralize immediately after deforestation. Applications of 80 kg N/ha/yr was sufficient for growth and increased organic N and nitrates by about 20 kg/ha/year.

COMPENDIO

El objeto del presente trabajo es valorar el efecto de diferentes tratamientos en pasto cultivado, cultivo de cacao y cultivo mixto de cacao y seringueira, aplicados a oxisoles de Amazonia recientemente desforestados, sobre la fertilidad del suelo mediante la técnica de electroultrafiltración. Los resultados, después de nueve años de experimentación, permiten concluir que el pasto cultivado contribuye a mantener los niveles de fertilidad del suelo, a condición de aplicar una fertilización moderada de N, P y K. Dosis moderadas de K a los cultivos intensivos permitieron elevar el nivel disponible en el suelo, pero no el de reserva, debido a que estos suelos carecen de capacidad de fijación de este elemento. En relación al P, contrario a lo esperado, se obtuvo una respuesta satisfactoria con la aplicación de dosis moderadas de P (40 kg/ha/año) cuando se acompañó de enmiendas calizas. El N tiende a mineralizarse en el período inmediato a la deforestación. Aplicaciones de 80 kg N/ha/año permitieron atender las necesidades del cultivo e incrementar los contenidos de N orgánico y de nitratos, aumentando el N disponible en casi 20 kg/ha/año.

INTRODUCCION

Es bien conocido el intenso proceso de deforestación que, en la actualidad, tiene lugar en la Amazonia Oriental. Al mismo tiempo, se está produciendo un rápido descenso de las condiciones de fertilidad de estos suelos —dos a tres años— después de este proceso. Ello implica cambios de

asentamiento de los colonos con el consiguiente efecto de provocar nuevas deforestaciones. Con el objeto de desacelerar estos procesos, es necesario probar diferentes sistemas agrícolas para valorar las posibles alternativas que permitan mantener la fertilidad de los suelos.

El procedimiento más utilizado actualmente para valorar la evolución de la fertilidad, se basa en controlar la dinámica de los nutrientes. Esta, por definición, se refiere a la reposición de elementos nutritivos desde el suelo a la planta a través de la solución del suelo. Se trata de un proceso en el cual las velocidades de desorción y disolución de los

¹ Recibido para publicación el 19 de julio de 1989.

* Instituto de Edafología y Biología de Madrid (CSIC), España.

** Centro de Energía Nuclear na Agricultura (CENA), Piracicaba, Brasil. Brasil.

*** Centre de Pédologie Biologique, Nancy, France.

nutrimentos desempeñan un papel decisivo. Estas velocidades de reposición están determinadas por varias propiedades del suelo, tales como el pH, el contenido y tipo de arcilla, y la materia orgánica.

El establecimiento de la velocidad de desorción de los nutrimentos solamente puede hacerse cuando estas propiedades del suelo son bien conocidas. Sin embargo, la electroultrafiltración (EUF) permite medir la velocidad de desorción y solubilidad en una simple extracción, sin que se precise la determinación de las propiedades del suelo antes mencionadas (14).

La técnica de EUF está basada en la combinación de la electrodialisis y la ultrafiltración (12), con la ventaja sobre la primera de que el pH de la suspensión permanece constante durante la extracción y, por tanto, las características del suelo se ven respetadas en el proceso.

Cuando se somete una suspensión de suelo al efecto de un campo eléctrico, la migración de los iones es directamente proporcional a la fuerza del campo y a la temperatura, e inversamente proporcional a la fuerza de unión de los iones al sustrato del suelo. Con un programa adecuado de voltajes, tiempos, temperaturas e intensidad de corriente es posible separar fracciones de nutrimentos con diferente fuerza de unión, cuya información es de vital importancia para la nutrición de la planta.

En el caso de los suelos amazónicos, son todavía mal conocidos los factores responsables del cambio de sus propiedades y la pérdida de su fertilidad debido a la deforestación y al cultivo. El objeto del presente trabajo es aplicar la técnica de EUF a estos suelos para valorar su efecto sobre la fertilidad según los siguientes tratamientos: a) pasto cultivado, b) cultivo intensivo de cacao, y c) cultivo intensivo de cacao asociado a seringueira, todos ellos durante un período de nueve años. La aplicación de EUF a este tipo de suelos tiene limitados antecedentes en los trabajos de Nemeth *et al.* (14) y Diez *et al.* (6 y 7).

MATERIALES Y METODOS

Para el desarrollo de este trabajo se eligió una finca de experimentación controlada por la Empresa Brasileña de Pesquisas Agropecuarias (EMBRAPA), situada en Capitán Poço, a 200 km al oeste de Belém (PA). El clima del área en aquella región nordeste

del estado de Pará es húmedo con una estación seca de uno o dos meses. Las precipitaciones medias anuales son de 2500 mm; la estación lluviosa, entre los meses de enero y junio, y la seca, entre octubre y noviembre. La temperatura media es de 26.9°C, con una amplitud de 2.4°C entre el mes más caliente (julio) y el más frío (enero).

Los suelos estudiados están localizados en una zona de topografía plana ligeramente ondulada. Según Araujo (1) son latosoles amarillos de textura media a gruesa y arenas cuarzosas en las partes bajas. Sin embargo, Rego *et al.* (18) identifican en el área suelos lateríticos concrecionados y latosoles amarillos podzolizados. Los perfiles son todos parecidos. El horizonte A1 consta de una primera capa (horizonte A11) de color ceniza oscuro (10YR 3/3) de estructura granular y textura arenosa con granos de cuarzo gruesos, abundantes raíces y porosidad alta. La segunda capa (horizonte A12) de color marrón ceniza (10YR 4/3) presenta manchas moteadas difusas y una estructura granular más frágil que la capa superior. Entre los 10 cm y 40 cm, aparece una zona heterogénea con abundantes manchas de óxidos de hierro, en relación con la existencia de un proceso de hidromorfia. Los horizontes situados entre 50 cm y 150 cm están caracterizados por un color amarillo (10YR 5/6 a 6/8), y una alta compactación que va disminuyendo a medida que aumenta la profundidad. Manchas de color ceniza o de óxido de hierro pueden aparecer pero son escasas en los suelos bajo pasto.

En esta zona de bosque natural, después de deforestar y quemar y con objeto de valorar la evolución de la fertilidad del suelo con el tiempo, se han aplicado los siguientes tratamientos:

- 1) **Pasto de nueve años.** Una vez efectuado el desmatamiento y procedido a su quema, se sembró *Pennisetum maximum* (hierba elefante), gramínea forrajera bien adaptada a este tipo de suelo y poco exigente en fósforo (9). Este pasto se mantuvo durante un período de nueve años, transcurrido el cual se efectuó la toma de muestra.
- 2) **Cultivo intensivo de cacao.** Una vez que tuvo lugar la deforestación, se procedió a la quema y, posteriormente, a la implantación de un cultivo de cacao (*Theobroma cacao*) que se mantuvo durante nueve años. En este tiempo el cultivo fue fertilizado anualmente, recibiendo

hasta el momento las siguientes dosis acumuladas de fertilizantes: 749 kg N/ha, 850 kg P205/ha, 782 kg K20/ha, 445 kg CaO/ha y 254 kg MgO por hectárea.

La producción de cacao ha oscilado de unos años a otros. Se tomó como referencia el obtenido en 1985, esto es de 1300 kg de almendra por hectárea.

- 3) **Cultivo intensivo de cacao y seringueira.** En una secuencia similar a la mostrada en el caso anterior, después de quemar, se procedió a la implantación de un cultivo mixto (*T. cacao*) y seringueira (*Hevea brasiliensis*). Esta asociación es frecuente, dada la sensibilidad de la planta de cacao a la intensidad luminosa, de tal manera que el mayor porte de la seringueira permite el sombreado del cacao. Desde la implantación del cultivo hasta el momento de la toma de muestras de suelo han transcurrido nueve años, durante los cuales se ha fertilizado anualmente, habiendo recibido hasta ahora las siguientes dosis acumuladas: 765 kg N/ha, 828 kg P205/ha, 744 kg K20/ha, 1969 kg CaO/ha y 235 kg MgO por hectárea.

Las muestras fueron recolectadas en cuatro diferentes profundidades: en el pasto, 0 - 10 cm, 10 - 20 cm, 20 - 40 cm y 40 - 60 cm; en el cacao, 0 - 10 cm y 10 - 20 cm, y en cacao con seringueira entre 0 - 3 cm, 3 - 10 cm, 10 - 20 cm, 20 - 40 cm y 40 - 60 centímetros.

Una vez desecadas y tamizadas las muestras de 2 mm, se determinaron diferentes parámetros físico-químicos. El contenido en carbono se realizó mediante el analizador CARMOGRAPH-12, y el N total por el método Kjeldahl, valorando el NH₄⁺ mediante el autoanalizador Technicon AA II. El pH se determinó en una suspensión de suelo en agua en pasta saturada.

Los contenidos de arcilla total presentes en el suelo, fueron valorados por granulometría mediante el método de la pipeta de Robinson y de arcilla selectiva por EUF según el protocolo establecido por Diez *et al.* (4), con el objeto de valorar la actividad de la arcilla frente a los nutrientes.

El estudio de la dinámica de los nutrientes se realizó mediante la técnica de electroultrafiltración (13), siguiendo el programa siguiente:

Fracción I: 30 mn; 20 C, 200 V, 15 mA máximo.

Fracción II: 5 mn; 80 C, 400 V, 150 mA máximo.

Para proceder a la extracción de las muestras, se introdujeron 5 g de suelo, tamizados a 1 mm, en la cámara central en una relación suelo/agua 5/50.

En los extractos de EUF, una vez mezclados los procedentes del cátodo con los del ánodo, correspondientes a cada fracción, se determinó el contenido de K y Ca mediante fotometría de llama, y el P con el autoanalizador por el método del molibdato amónico.

En el filtro del cátodo, tratado con HCl 2N, se determinaron el Mg, Fe y Al mediante espectrofotometría de absorción atómica. En el caso del Mg también se fijó su contenido en los extractos, de tal manera que la cifra en el Cuadro 2 es la suma del procedente de los extractos más el filtro.

Así mismo, en los extractos de EUF, se determinó el N total (EUF-N) mediante irradiación ultravioleta y oxidación con persulfato potásico en medio alcalino, para transformar todos los compuestos nitrogenados en nitratos (4) y, posteriormente, valorarlos por el método de la N1 naftiletildiamina, todo ello integrado en un sistema de autoanalizador. Paralelamente, en otro canal se determinó el contenido de nitrato presente en los extractos antes de la oxidación (EUF-NO₃). Ambas determinaciones fueron realizadas mezclando los extractos de cátodo y ánodo.

Por diferencia entre EUF-N total y EUF-NO₃ se determinó el contenido en EUF-N orgánico, el cual está constituido por compuestos nitrogenados de bajo peso molecular y representa la fracción de N orgánico que, previsiblemente, se mineralizará a corto plazo.

Finalmente se determinó un parámetro de N disponible, considerando que cada mg N/100 g, extraído por EUF en forma de NO₃⁻, equivale a 30 kg N/ha y cada mg N/100 g de N orgánico a 50 kg N/ha (15).

RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro 1 se muestran algunas de las propiedades de los suelos con y sin tratamientos. Los valores de pH, en general, son bajos, pero se observa un claro efecto positivo con cualquiera de los tratamientos, comparado con el bosque natural, a pesar del tiempo transcurrido desde la práctica del quemado que —como se sabe— tiende a elevar acusadamente el pH del suelo.

Los contenidos de carbono orgánico en suelos bajo bosque natural presentan una distribución característica de los oxisoles del trópico húmedo, con concentraciones relativamente altas en los primeros 10 cm, un brusco descenso en los siguientes 10 cm y una disminución progresiva con la profundidad (10). En los suelos en barbecho, de seis a ocho años, se observa un aumento de los contenidos en los primeros 40 cm, especialmente en el horizonte 10 - 20 cm en relación con el suelo con vegetación natural.

Cuadro 1 Algunas características físico-químicas del bosque natural y del mismo suelo después de diferentes tratamientos.

Tratamientos	Profundidad (cm)	pH (agua)	Nitrógeno (%)	Arcilla selectiva (%)
Bosque natural	0-10	3.60	0.187	10
	10-20	3.60	0.067	5
	20-40	4.20	0.043	—
	40-60	4.40	0.030	—
Pasto	0-10	5.30	0.084	5
	10-20	5.00	0.057	5
	20-40	4.80	0.038	—
	40-60	4.70	0.030	—
Cacao	0-10	4.70	0.144	15
	10-20	4.25	0.075	5
Cacao + caucho	0-3	5.05	0.219	15
	3-10	4.50	0.092	5
	10-20	4.40	0.061	5
	20-40	4.60	0.036	—
	40-60	4.70	0.033	—

Comparativamente, el suelo de pasto muestra una disminución relativa del contenido de carbono en el horizonte 0 - 20 cm y ningún aumento notable en los más profundos.

La textura no presenta variaciones especiales en los suelos de la región, pero sí algunos cambios en el espesor de cada horizonte (10, 11). En los horizontes 0 - 10 cm y 10 - 20 cm predomina la fracción de arenas (67% - 88%) con variable distribución entre arenas finas y gruesas. El limo es poco abundante (8% a 12%) y la fracción de arcilla varía entre 15% y 25%, con mínimos menores del 10% en los primeros dos centímetros debido al empobrecimiento superficial por arrastre y lixiviación. A partir del horizonte 20 - 30 cm se observa un descenso de la fracción de arenas finas y un aumento de la de arcilla que llega a alcanzar valores del 40% en los horizontes más profundos.

Sin embargo, el contenido en arcilla selectiva (4) es especialmente bajo como corresponde a suelos con predominio de caolinita (5). En general, los contenidos de nitrógeno total pueden considerarse altos, sobre todo en el horizonte superficial.

Dinámica del potasio

En la Figura 1 y en el Cuadro 2 puede apreciarse la variación de los contenidos de EUF-K 20°C (K disponible) con la profundidad en cada uno de los tratamientos. Los contenidos en K son considerablemente más altos en los horizontes superficiales, observándose un agudo descenso entre los 10 cm y 20 cm, a partir del cual se detectan contenidos dos a tres veces más bajos.

La dinámica del K es claramente diferente en los suelos que no recibieron fertilización potásica respecto

Cuadro 2. Efecto de los tratamientos sobre la dinámica del P, K, Ca, Mg, Fe y Al en el suelo, determinada mediante electroultrafiltración.

Tratamientos	Profundidad (cm)	EUF-P*		EUF-K*		Ca*	Mg*	Fe (ppm)	Al (ppm)
		20°C	80°C	20°C	80°C				
Bosque natural	0-10	0.14	0.10	2.52	0.4	7.5	1.55	-	0.72
	10-20	0.03	0.02	1.04	0.2	7.8	1.59	-	1.20
	20-40	-	-	0.56	-	8.7	0.33	-	2.50
	40-60	-	-	0.26	-	8.0	0.33	-	1.80
Pasto de nueve años	0-10	-	-	1.76	0.2	9.8	0.90	-	0.26
	10-20	-	-	0.78	0.2	10.8	0.30	-	0.28
	20-40	-	-	0.22	-	8.3	0.60	-	0.30
	40-60	-	-	0.28	-	9.3	0.68	-	0.44
Cacao	0-10	1.50	0.60	9.90	0.8	21.1	3.10	-	0.82
	10-20	0.05	0.04	1.04	0.2	12.0	1.60	3.8	1.06
Cacao + caucho	0-3	0.64	0.80	9.28	0.8	20.2	1.88	-	0.48
	3-10	0.11	0.18	1.10	0.2	13.0	1.13	0.8	0.34
	10-20	0.01	0.01	1.12	0.2	12.4	1.10	-	0.50
	20-40	-	-	0.28	-	10.8	0.38	-	-
	40-60	-	-	0.84	-	10.3	0.30	-	0.86

* mg/100 g

de los que fueron fertilizados (Cuadro 2). En el pasto, los niveles observados son ligeramente inferiores a los mostrados por el bosque natural, lo cual indica el moderado efecto de deterioro de este tratamiento respecto de K, considerando el prolongado período de nueve años transcurridos desde el comienzo del experimento. Sin embargo, como ya ha sido indicado por Diez *et al.* (7), esta práctica exige que sea complementada con una fertilización potásica.

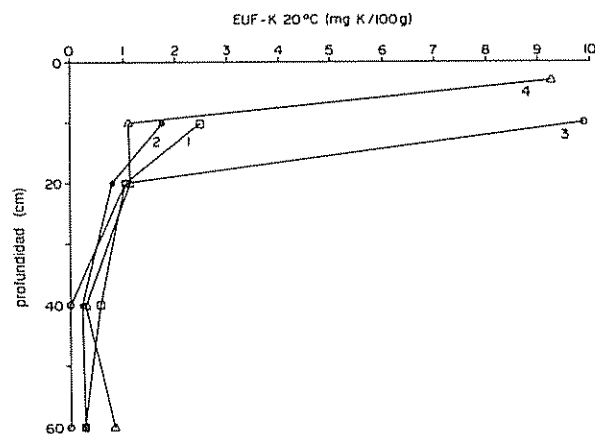


Fig. 1 Variación con la profundidad de EUF-K 20°C (K disponible) con los tratamientos 1 (bosque natural); 2 (pasto de nueve años); 3 (cacao); 4 (cacao más seringueira).

En los otros dos tratamientos con cacao se observan valores más altos de K, como corresponde a suelos que han recibido fertilización potásica en forma periódica.

En el caso del cultivo de cacao, se han aplicado 72 kg de K/ha/año. Ello ha provocado que de los 75 kg K/ha detectados en la fracción EUF-F 20°C en el horizonte 0 - 10 cm del bosque natural, se haya pasado al cabo de nueve años de experimentación a 297 kg K/ha (equivalente a EUF-K 20°C = 9.9 mg K/100 g). En consecuencia, la dosis aplicada está por encima del K exportado por el cultivo, originando un incremento del K disponible anual de 24.6 kg K/ha (EUF-K 20°C), probablemente restituido por la caída de hojas. Ello demuestra que, en este tipo de suelos, la aplicación anual de dosis moderadas permite aumentar el nivel de K disponible, dada la escasa o nula capacidad de fijación de K en estos suelos. En cambio, las reservas de K (EUF-K 80°C) aumentan muy débilmente.

Este resultado no sólo es consecuencia de la fertilización potásica si no de la aplicación simultánea de 50 kg de CaO/ha/año, lo que, de alguna manera, ha contribuido a disminuir la concentración de K en la solución del suelo, al tiempo que aumenta el K de cambio (14).

En el tratamiento del cultivo mixto de cacao con seringueira, se observan resultados similares al anterior. Con una tasa de fertilización anual de 83 kg K₂O/ha, equivalente a 69 kg K/ha, se consiguió elevar el nivel de K disponible en el horizonte superficial a 278 kg/ha (equivalente a EUA-K 20°C = 9.28 mg k/100 g), originando un incremento de K disponible anual de 22.5 kg de potasio por hectárea.

En conclusión, se puede decir que el pasto precisa fertilización potásica en el orden de 100 kg K₂O/ha anuales para recuperar los niveles de fertilidad. Respecto de otros tratamientos, parece recomendable mantener las dosis de fertilización potásica aplicadas hasta el momento, con la consideración de que, en la actualidad, los valores observados están próximos al óptimo, momento a partir del cual podrían reducirse dichas dosis.

Dinámica del fósforo

También en la dinámica P se detectan dos comportamientos diferentes entre los suelos fertilizados y los que no lo fueron. En general, los valores más altos aparecen en los horizontes superficiales, observándose que, por debajo de los 20 cm, no se detecta la presencia de P (Cuadro 2).

El pasto, en relación con el bosque natural, muestra un ligero descenso en los niveles de P en los horizontes superficiales. Esto se debe a los bajos contenidos de este elemento en el suelo, tanto en forma disponible como en sus reservas, lo que hace que el P absorbido por el pasto con el tiempo supere al P movilizado, como consecuencia del incremento de pH y el descenso del Al de cambio, por efecto del quemado. Esto confirma observaciones anteriores sobre la existencia de carencias fosfatadas en los pastos de Amazonia.

Por el contrario, el comportamiento de la dinámica del P en los suelos con cultivos que recibieron fertilización fosfatada es muy diferente. En el caso del cacao, la aplicación anual de 41 kg de P/ha, hizo que aumentase el P disponible de 4.2 kg P/ha (equivalente a EUF-P 20°C = 0.14 mg P/100 g) a 45 kg P/ha (equivalente a 1.5 mg P/100 g) durante los nueve años del experimento. Ello supone que de los 41 kg P/ha aplicados anualmente, se incremente el P disponible (EUF-P 20°C) en 4.5 kg y las reservas de P (EUF-P 80°C) en 1.7 kg, además que satisface las

necesidades de absorción de P por el cultivo. El resto contribuirá a incrementar el P fijado, dadas las características de pH y contenido en Al de estos suelos.

Es evidente que estos resultados que pueden considerarse como satisfactorios, se deben, en gran parte, a la aplicación simultánea de 50 kg CaO/ha que contribuyen a elevar el pH del suelo y sobre todo a inmovilizar parcialmente el Al presente en el mismo. Este tratamiento conduce a un balance positivo en relación con la dinámica del P, permitiendo restablecer los niveles óptimos a medio plazo.

En el caso del cultivo de cacao con seringueira, se observó que la aplicación de 40 kg P/ha/año permitió atender las necesidades del cultivo aunque en forma precaria, dadas las bajas concentraciones de P en la solución del suelo y la deficiente capacidad de reposición de P a la solución. Igualmente ha permitido incrementar el P disponible en 1.6 kg/ha/año pasando de 4.2 kg/ha en la mata (equivalente a EUF-P 20°C = 0.14 mg K/100 g) a 19.2 kg/ha (equivalente a EUF-P 20°C = 0.64 mg K/100 g) al cabo de nueve años de tratamiento. Además dicha fertilización ha permitido incrementar el P de reserva a razón de 2.66 kg/ha/año (equivalente a EUF-P 80°C = 0.8 mg P/100 g), valor ligeramente superior al alcanzado en el cultivo de cacao, a pesar de la fijación de P en estos suelos.

Comparando los resultados del cultivo de cacao con seringueira con los de cacao, se puede decir que la fertilización fosfatada aplicada en el primer caso fue insuficiente para recuperar los niveles de fertilidad, aunque las dosis de P, aplicadas en ambos casos, fueron similares y el encalado fue cinco veces superior en el caso de cacao con seringueira. Ello se debe a que la exportación de P fue superior en este último caso.

Contenido de metales pesados

En el extracto del filtro del cátodo se detecta la presencia de Al en diferentes proporciones en todos los horizontes, a diferencia del Fe que aparece en escasas ocasiones.

En el Cuadro 2 se puede observar que en pasto se origina un descenso de Al con respecto del bosque

natural, debido al efecto del quemado en un principio y al del propio tratamiento que consigue mantener el pH en valores superiores.

Por otra parte, se detecta una clara diferencia entre el alto nivel de Al en el cacao solo, comparado con el que tiene seringueira. Ello se debe a la mayor dosis de CaO aplicada en el segundo que hace que aumente el pH y disminuya el Al.

Dinámica del calcio y del magnesio

En los suelos que no han recibido enmiendas calizas (bosque natural y pasto), los niveles de calcio (Ca) fueron similares en los diferentes horizontes, por lo que se debe destacar que en el pasto el efecto del quemado ha desaparecido al cabo de nueve años. En cambio, en los que recibieron fertilización se detectan valores mayores en los horizontes superficiales, lo que muestra la lenta translocación del Ca aplicado en el horizonte superficial para alcanzar niveles más profundos.

Por otra parte, se debe comentar que en el cultivo de cacao, la aplicación anual de 50 kg CaO/ha permitió elevar muy débilmente el pH, mientras que los niveles de EUF-Al no se vieron afectados significativamente. En cambio, en el cultivo de cacao con seringueira, la dosis de 190 kg CaO/ha/año permitió elevar significativamente el pH del suelo a 5.05, reduciendo apreciablemente los contenidos de EUF-Al.

En el caso del magnesio (Mg) se observa que en todos los casos los niveles más altos se dan en el horizonte superficial. En cuanto a los tratamientos, el pasto es el que muestra un valor bajo, por lo que a la vista de estos resultados parece conveniente la aplicación de Mg. Las dosis de Mg aplicadas a los cultivos fueron similares en ambos casos, detectándose valores superiores en el horizonte superficial en el cultivo de cacao.

Dinámica del nitrógeno

La EUF permite la determinación de los contenidos de NO_3^- y de N orgánico con bajo peso molecular, constituido principalmente por aminoácidos (13). En la Figura 3 se muestran los diagramas de ambas formas de N en el bosque natural y en cada uno de los tratamientos.

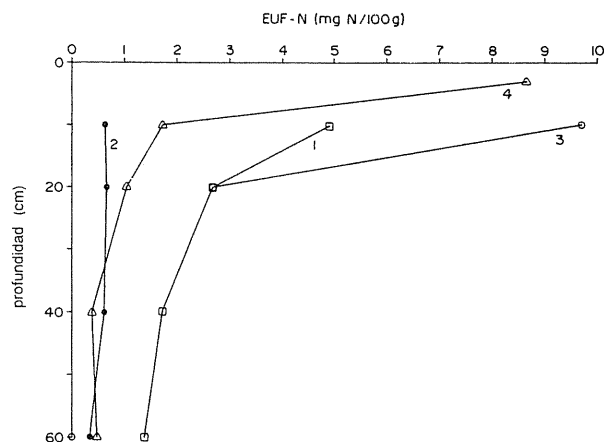


Fig. 2. Variación con la profundidad del contenido de EUF-N, con los tratamientos 1 (bosque natural); 2 (pasto de nueve años); 3 (cacao); 4 (cacao más seringueira).

En general, se observa que los contenidos de N descenden con la profundidad, correspondiendo los valores más altos a los suelos que han recibido fertilización nitrogenada (Fig. 2).

En el bosque natural se puede apreciar que la relación entre EUF-N org/EUF- NO_3^- se mantiene a niveles similares en los distintos horizontes (1.67 de 0 cm a 10 cm y 1.55 de 40 cm a 60 cm) (Cuadro 3), con un ligero predominio de la fracción orgánica sobre la mineral, lo que indica que los aportes de N son más intensos que el proceso de nitrificación.

En el caso del pasto de nueve años, y como ya ha sido también comentado por Diez *et al.* (7), la deforestación origina un proceso degradante del N del suelo, que sólo puede ser compensado con la aplicación de adecuadas dosis de fertilización nitrogenada.

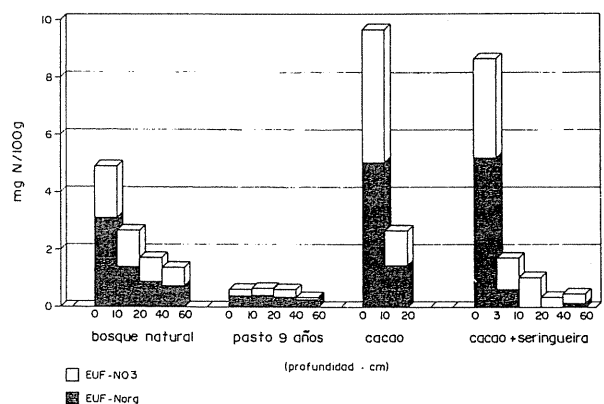


Fig. 3. Diagrama de distribución de EUF- NO_3^- , EUF-N orgánico y EUF-N en los diferentes horizontes, con los tratamientos.

El cultivo del pasto origina un nuevo ciclo del N que, por sí mismo, no consigue compensar las pérdidas originadas por la degradación. Durante este proceso se observa un descenso de ambas formas de N, pero de manera más acusada del N orgánico, lo que indica que en este caso los procesos oxidantes (nitrificación) están acelerados, como lo demuestran los altos valores de la relación EUF-N orgánico $80^{\circ}\text{C}/\text{EUF-N org. } 20^{\circ}\text{C}$, indicando la capacidad para movilizar N desde sus reservas (17).

En el pasto, la actividad microbiana evaluada a través de la relación EUF-N orgánico/EUF- NO_3^- (17), da valores ligeramente inferiores a los mostrados por el bosque natural, y la relación EUF- $\text{NO}_3^-/\text{EUF-N}$ de 0.43 es relativamente baja, lo cual significa que en el supuesto de que se procediera a la fertilización nitrogenada en este suelo, se originaría un moderado proceso de inmovilización de N.

El balance de N disponible en el pasto permite evaluar las pérdidas globales durante los nueve años del experimento en 184 kg N/ha, lo que representa una tasa anual de 20 kg N/ha/año.

En cuanto al cultivo de cacao, la situación es diferente, debido principalmente a la fertilización

nitrogenada. La aplicación de 83 kg N/ha/año permitió abastecer de N al cultivo e incrementar el N disponible del suelo en 182 kg/ha, lo que representa una tasa de crecimiento anual de 20 kg de N por hectárea.

El incremento del N del suelo afectó ambas formas de N, el NO_3^- y el N orgánico en beneficio de la primera. Como consecuencia la actividad microbiana (17) es menor que en el bosque natural (Cuadro 3).

Por otra parte, la capacidad de movilización del N de sus reservas es apreciablemente baja (EUF-N orgánico $80^{\circ}\text{C}/\text{EUF-N orgánico } 20^{\circ}\text{C} = 0.17$). En esta situación, este suelo originará una moderada inmovilización de N cuando se procede a la fertilización con este elemento.

Finalmente se analizará el estado del N en el caso del cultivo mixto de cacao y seringueira, que también fue fertilizado con ese elemento. La aplicación de 85 kg N/ha/año permitió abastecer el cultivo e incrementar el N disponible en 150 kg/ha, lo que representa una tasa de crecimiento anual de 17.7 kg/ha. Comparando estos resultados con los del cacao, se observa que la exportación de N por este cultivo es más intensa.

Cuadro 3. Efecto de los tratamientos sobre las relaciones de los parámetros de nitrógeno, determinado mediante la técnica de electro-ultrafiltración.

Tratamientos	Profundidad (cm)	Actividad microbiana	Capacidad de	Possible movilización	N disponible (kg N/ha)
		EUF-N org. EUF- NO_3^-	movilización de N EUF-N org. 80°C EUF-N org. 20°C	del N aplicado EUF- NO_3^- EUF-N	
Bosque natural	0-10	1.67	0.42	0.37	209
	10-20	1.14	0.57	0.46	109
	20-40	1.07	1.40	0.48	69
	40-60	1.55	1.62	0.39	558
Pasto de nueve años	0-10	1.29	16.00	0.43	25
	10-20	1.12	10.60	0.47	27
	20-40	4.16	2.76	0.19	29
	40-60	1.26	12.00	0.44	14
Cacao	0-10	1.07	0.17	0.48	391
	10-20	0.98	0.64	0.50	107
Cacao + caucho	0-3	1.51	0.22	0.40	369
	3-10	0.49	1.33	0.66	63
	10-20	-	16.00	1.00	31
	20-40	-	16.00	1.00	12
	40-60	0.20	16.00	0.83	16

El incremento final de N en el suelo afectó ambas formas de N, obteniéndose una relación EUF·N org/EUF NO₃ de 1.51, muy similar a la mostrada por el bosque natural. En la Fig. 3 se puede observar que los niveles de N descienden con la profundidad, pero en este caso el descenso es especialmente brusco entre los horizontes de 0 cm - 3 cm y 3 cm - 10 cm, lo que se explica fácilmente por la importante reposición de hojas en el horizonte superficial. En los horizontes inferiores sólo se detecta la presencia de NO₃ en bajas proporciones, debido, probablemente, a su gran movilidad en el suelo.

La actividad microbiana en este tratamiento es muy similar a la del bosque natural. La capacidad de movilización del N es apreciablemente baja en el horizonte superficial y mayor en los más profundos. La posible inmovilización de N solamente se daría en el horizonte superficial, donde la actividad microbiana es alta y hay un predominio de N orgánico, mientras que, en el resto, quedaría disponible.

CONCLUSIONES

Es evidente que cualquiera de las prácticas de cultivo experimentadas degradan la fertilidad del suelo, si se comparan los resultados con los del bosque natural. Sin embargo, considerando los resultados obtenidos en éste y en anteriores trabajos (6, 7), el pasto cultivado y mantenido en buenas condiciones de manejo representa una alternativa viable siempre que vaya acompañado de una fertilización moderada de nitrógeno, fósforo y potasio. Según Diez *et al.* (7), esta práctica eleva el pH del suelo, reduce la actividad del Al, aumenta la actividad del P, incrementa los valores de K en comparación con los del barbecho, aumenta la actividad biológica del suelo y muestra una tendencia a mantener el N disponible.

En este tipo de suelos la aplicación de dosis moderadas de K (70 kg K/ha) permitió abastecer adecuadamente a cada uno de los cultivos de cacao estudiados e incrementar el nivel de K disponible, pero no el K de reserva, lo que demuestra la escasa o nula capacidad de fijación de potasio.

Contra cualquier pronóstico, en este tipo de suelos, se obtuvo una respuesta satisfactoria con la aplicación de dosis moderadas de P (40 kg P/ha/año) cuando

fueron acompañadas de enmiendas calizas en el cultivo de cacao. Sin embargo, dosis similares de fósforo aplicadas en el cultivo mixto de cacao con seringueira fueron insuficientes para recuperar el nivel de fertilidad del suelo a pesar de aplicar CaO en dosis cinco veces superiores.

Aplicaciones del orden de 80 kg N/ha/año permitieron atender las necesidades de los cultivos de cacao e incrementar ambas formas de nitrógeno (orgánico y nitratos), aumentando el N disponible en 20 kg/ha/año en ambos casos.

Así mismo, se demuestra el interés que presenta la aplicación de la EUF al estudio de la dinámica de nutrimentos en oxisoles, al aportar una información más amplia con otras técnicas, lo que permite predecir las reacciones de los fertilizantes y racionalizar la recuperación de la fertilidad de los suelos de esta región.

LITERATURA CITADA

1. ARAUJO, J.V. 1973. Levantamento exploratório de solos da folha SA 23 Sao Luiz e parte da folha SA 24: Fortaleza. Rio de Janeiro, Departamento Nacional da Produção Mineral (Bra.), Projeto RADAM, Levantamento de Recursos Naturais. v. 3.
2. DIEZ, J.A. 1985. Estimación del contenido en arcilla activa de K mediante electroultrafiltración. *Anales de Edafología y Agrobiología (España)* 44:1421-1431.
3. DIEZ, J.A.; CADAHIA, C.; GARATE, A.; REVILLA, E. 1985. Estudio de la dinámica de nutrientes mediante EUF como base de la fertilización. Madrid, CSIC-UAM. 175 p.
4. DIEZ, J.A. 1985. Determinación del N.U.V. oxidable y nitrato, en extractos de suelos mediante autoanализador. *Anales de Edafología y Agrobiología (España)* 44:1453-1464.
5. DIEZ, J.A.; MIFSUD, A.; GALLEGU, M.T. 1987. Assessment of soil clay components by electroultrafiltration. *Agrochimica (Italia)* 31:355-366.

6. DIEZ, J.A.; POLO, A.; CERRI, C.; ANDREUX, F. 1989. Estudio de la capacidad nutriente de los oxisoles desarrollados sobre bosque tropical de Amazonia. *Anales de Edafología y Agrobiología* (España).

En prensa
7. DIEZ, J.A.; POLO, A.; CERRI, C.; ANDREUX, F. 1989. Influencia del barbecho y del pasto sobre la dinámica de nutrientes de oxisoles recientemente desforestados en Amazonia Oriental. PAB.

En prensa.
8. FEARNISIDE, P.M. 1987. Causes of deforestation in the Brazilian Amazon. In R.F. Dickinson (Ed.). *The Geophisiology of Amazonia: Vegetation and Climate Interactions*. New York, Wiley. p. 37-53.
9. LOBATO, E.; KORNELIUS, E.; SANZONOWIEZ, C. 1986. Adubação fosfatada em pastagem. I. In Simposio sobre Calagem e Edubação de Pastagem. (Piracicaba, Bra.). Piracicaba, Ass. Bras. Pesq. Potassa e Fosfato. p. 145-174.
10. MARTINS, P.F.S.; CERRI, C.C. 1986. O solo de um ecossistema natural de floresta localizado na Amazonia Oriental. I. Caracterização química e física. In Simposio do Trópico Umido (1., Belém, Bra.). *Anais*. p. 271-286.
11. MARTINS, P.F.S.; CERRI, C.C.; VOLKOFF, B.; ANDREUX, F.; CHAUVEL, A. 1989. Consequences of clearing and tillage on the soil of a natural Amazonian ecosystem.

In press
12. NEMETH, K. 1972. The determination of desorption and solubility rates of nutrients in the soil by means of electroultrafiltration (EUF). In *Colloq. Int. Potash Inst.* (9., Berna, Suiza). *Proceedings*. p. 3-12.
13. NEMETH, K. 1979. The availability of nutrients in the soil as determined by electroultrafiltration (EUF). *Advances in Agronomy* (EE.UU.) 31:155-187.
14. NEMETH, K. 1981. Nutrient dynamic in some humid tropical soils as determined by EUF. In *Int. Conf. "Phospotrops"*. *Proceedings*. Kuala Lumpur, Malasia. p. 1-14.
15. NEMETH, K. 1985. Recent advances in EUF research (1980 - 1983). *Plant and Soil* (Holanda) 83:1-19.
16. NEMETH, K. 1988. EUF-nitrogen determination and EUF-nitrogen fertilizer recommendation. In *EUF-Symposium*. Mannheim, West Germany. p. 14-46.
17. NEMETH, K. 1988. EUF-phosphate determination and EUF-phosphate fertilizer recommendation. In *EUF-Symposium*. Mannheim, West Germany. p. 47-70.
18. REGO, R.S.; VIEIRA, L.S.; AMARAL, FILHO, Z.P.; SANTOS, P.L.; LOPEZ, D.N.; REIS, C.M.; GAMA, J.R.N.F.; COSTA, M.F.; SERRUYA, L.M. 1973. Estudo detalhado de uma área do município de Capitaó Poço Belém, Bra., Instituto de Desenvolvimento Económico-Social do Estado do Pará. *Série Cadernos Paraenses* no. 9. 117 p.
19. SIOLI, H. 1984. The Amazon: Limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin. H. Sioli (Ed.). *Netherlands, Junk*. p. 127-165.

Changes in Some Odor-Active Volatiles in Apples During Storage in Air and in Simulated Low-Ethylene Controlled Atmosphere¹

*E.M. Yahia**

ABSTRACT

The evolution of 13 odor-active volatiles was followed during storage of "McIntosh" apples in air at 0°C and in simulated low-ethylene controlled atmosphere (LCA) at 3.3°C using gas chromatography. Three volatiles were not detected: pentyl acetate, iso pentyl acetate, and butyl propanoate. No differences in the production of hexanal, (E)-2-hexenal, butyl acetate and hexyl acetate in air or in LCA storage were detected. However, LCA severely suppressed the total of the 10 volatiles and butyl pentanoate, and completely suppressed the production of propyl butanoate, butyl butanoate, ethyl 2-methylbutanoate, ethyl butanoate and butyl hexanoate.

COMPENDIO

Se estudió por medio de cromatografía de gases la evolución de 13 compuestos volátiles aromáticos durante el almacenamiento de manzanas "McIntosh" en aire a 0°C y en atmósfera controlada simulada de baja concentración de etileno a 3.3°C. Tres componentes volátiles no fueron detectados: pentilacetato, isopentilacetato y butilpropanoato. Por otra parte no se encontraron diferencias en la producción de hexanol, (E)-2-hexanol, butilacetato y hexilacetato durante el almacenamiento en los dos tipos de atmósferas. Sin embargo, el almacenamiento en atmósfera controlada simulada de bajo etileno redujo severamente la producción total de los 10 volátiles y del butilpentanoato y eliminó completamente la producción del etilbutanoato, propilbutanoato, butilbutanoato, etil 2-metilbutanoato y butilhexanoato.

INTRODUCTION

Controlled atmosphere (CA) storage in which the atmosphere is altered by reducing the oxygen levels and raising the carbon dioxide levels, is a well established method of prolonging the storage life of apples (26). Although the physiological and biochemical basis of the CA effect on apples is not well understood (10), it is already known that CA storage decreases both the rate of ethylene synthesis and action, reduces the rate of respiration, and prevents or delays the appearance of some storage disorders (26). Normal ripening patterns of apples which include the rise in the rate of respiration, degradation of the cell wall, and pigment changes were disrupted by CA storage (12).

Cold atmosphere storage has also been suggested to suppress apple flavor (14, 29, 30). However, earlier studies (11) concluded that the full characteristic flavor of CA storage apples develops after a short conditioning period in air at room temperature. The severity of CA suppression of flavor components was found to be dependent on both the atmospheric composition and the length of storage (14, 16, 15, 19).

Ripening and senescence in apples is characterized by an array of physical and chemical changes, including changes in color, texture, and flavor. Ethylene which is recognized as the "ripening hormone" is assumed to initiate these changes (1, 3). Ethylene removal during storage of apples was found to be beneficial for further prolonging the storage life of the fruit (17, 18, 19, 20, 21). A program for the commercialization of low-ethylene CA storage (LCA) for apples was started in the state of New York in

¹ Received for publication 7 February 1989.

* Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. K. 0.6 carretera a La Victoria, Apdo. Postal 1735, Hermosillo, Sonora 83000, México.

1983 (2). Low-ethylene CA storage of "McIntosh" apples, (where fruit is harvested just before the onset of the autocatalytic ethylene production and the where ethylene in the CA room is maintained at $\leq 1 \mu\text{ l/kg h}$), has been found to be very effective in prolonging the storage life of the fruit with minimum losses in flesh firmness and acidity (21). However, the fruit was criticized by some consumers for lack of full, ripe flavor and poor flavor when cooked (21).

Sensory studies with "Golden Delicious" apples showed that odor was the first factor to deteriorate during CA storage, preceding the deterioration of the sweet-sour relation and texture (7). Although more than 260 volatiles have been identified to be produced by apples (5), only a few seem to have a significant impact on the sensory quality of the fruit (4).

It is not clear from previous studies how odor-active volatiles are affected by low-ethylene CA storage. In this study the evolution of 13 odor active volatiles in apples was followed during storage of "McIntosh" apples in air and in simulated low-ethylene cold atmosphere.

MATERIALS AND METHODS

Fruit source

"McIntosh" apples (*Malus domestica* Borkh.) were picked on September 24, 1983 from three mature trees grown at the Cornell University Orchard, Ithaca, New York. Trees had been sprayed with 1000 ppm daminozide about 60 - 75 days before harvest. Fruits were sorted and placed at the assigned treatments at the same day. Only fruits free of defects and with uniform medium size were used. Thirty apples per tree were evaluated at harvest for flesh firmness. Another 10 apples per tree were used for the analysis of odor-active volatiles. The remaining apples were stored in air at 0°C or in LCA at 3.3°C. Thirteen odor active volatiles (Table 1) were monitored at different intervals.

Simulated LCA storage

Apples were put into 19 l glass jars with about 50 fruits per jar. The jars filled with apples were left unstoppered in air at 3.3°C for 24 h to promote quick

Table 1. Odor-active volatiles analyzed.

butyl acetate	ethyl butanoate
pentyl acetate	propyl butanoate
iso pentyl acetate	butyl butanoate
hexyl acetate	
butyl propanoate	ethyl 2-methylbutanoate
hexanal	butyl pentanoate
(E) - 2-hexenal	butyl hexanoate

cooling and then stoppered. Premixed CA gases containing 3% O₂, 3% CO₂, and 94% N₂ were humidified and metered through each jar at 200 ml/minute. The atmosphere inside the jars was monitored three times a week. Gas samples were collected from the outlet of the jar, and O₂ and CO₂ contents were measured using an Orsat gas analyzer.

Ethylene production and flesh firmness measurements

The rate of ethylene production of LCA-stored apples was monitored at intervals by withdrawing 1 ml air sample from the effluent gas of each jar and injecting it into a gas chromatograph. The gas chromatograph was a Varian Aerograph Model 3700 equipped with a flame ionization detector and a 0.46 m x 3.2 mm column packed with activated aluminum oxide.

Flesh firmness was measured on two opposite paired surfaces of each fruit using an "Effigi" fruit penetrometer with an 11 mm plunger.

Odor-active volatile analysis

The apples were cut into eighths, placed in methanol to inhibit oxidation and pressed using a hydraulic press with a stainless steel basket. The juice was collected in a graduated cylinder containing 10 per cent (v/v) of the expected juice volume of methanol, and extracted with two thirds of its volume Freon 113 (1, 1, 2-trichloro-1, 2, 2-trifluoroethane) by stirring at 60 rpm for 30 minutes. The Freon layer was separated, dried using MgSO₄, and concentrated in a rotary evaporator at 35°C and 0.5 Pa to a 30-fold concentrate (30). The concentrates were stored in amber glass bottles at 0°C until analysis. A gas

chromatograph equipped with a flame ionization detector, and a 12.5 m × 0.36 mm fused silica column coated with 0.53 microns crosslinker methyl silicone was used for the analysis of the 13 volatiles. These volatiles have all been shown to be odor active by Cunningham *et al.* (4). The column temperature was held at 35°C for 3 min, increased 4°C/min to 250°C and held for 15 minutes. The retention indices (15) of 13 authentic standards (Table 1) were used to identify all volatiles and as a calibration standard for quantitative analysis. Retention indices were calculated using n-paraffin hydrocarbon standards containing n-heptane through n-octadecane.

RESULTS AND DISCUSSION

The ethylene production by fruits stored in LCA was lower than 0.4 ppm, which met the requirement of LCA storage of less than 1 ppm. This low concentration of ethylene was maintained by a continuous flow of ethylene-free CA gas mixture. The changes in flesh firmness during air and LCA storage are shown in Figure 1. Firmness losses of LCA-stored fruits were minimal while those apples stored in air had a significant loss. These results indicate that LCA

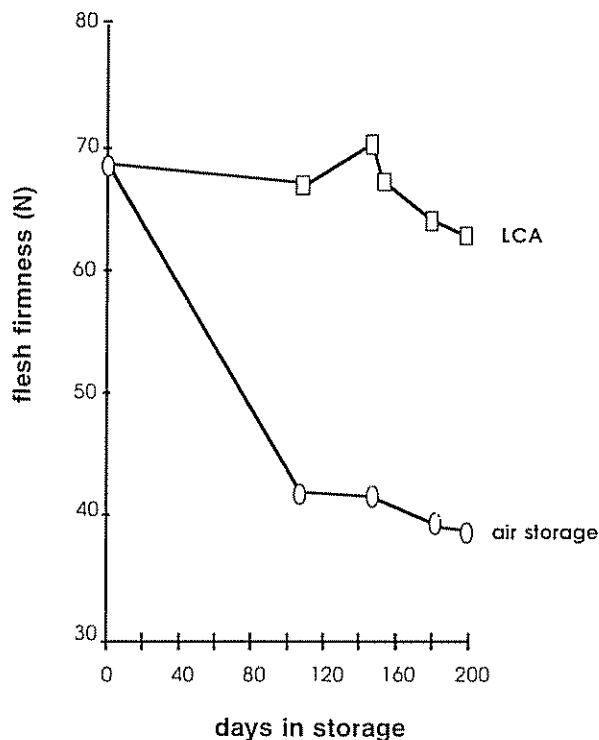


Fig. 1. Effects of LCA and air storage on the flesh firmness of "McIntosh" apples.

is very effective in reducing the loss in flesh firmness over an extended storage period. Similar results have been shown by others (2, 20, 21).

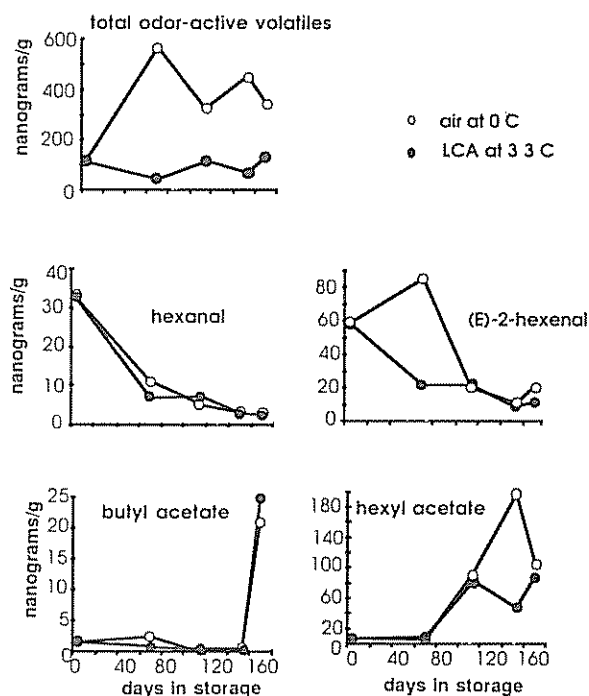


Fig. 2. The production of the total and some odor-active volatiles in "McIntosh" apples during storage in air and simulated low-ethylene CA (LCA).

Three of the 13 volatiles monitored were not detected. These were pentyl acetate, iso pentyl acetate, and butyl propanoate. Figures 2 and 3 show the production of the total and 10 odor-active volatiles during air and LCA storage. There were no large differences in the production of hexanal, (E)-2-hexenal, butyl acetate, and hexyl acetate in air or in LCA storage. However, LCA severely suppressed the production of total volatiles and butyl pentanoate, and completely suppressed the production of ethyl butanoate, propyl butanoate, butyl butanoate, ethyl 2-methylbutanoate, and butyl hexanoate. The six volatiles suppressed contribute significantly to apple flavor (4, 5).

These results clearly indicate that different odor-active volatiles are affected differently by LCA storage. This selective effect is helpful to allow future work to concentrate only on those volatiles affected by a low-ethylene cold atmosphere. The volatiles not

affected include two aldehydes and two acetates (Fig. 2), while the affected volatiles include members of butanoates, 2-methylbutanoates, pentanoates and hexanoates (Fig. 3). This raises the question of whether the "CA effect" in general might be related to chemical structure. In case this proved to be a valid assumption, future work would be able to concentrate only on a few chemical groups rather than on many individual volatiles.

Storage of apples in CA (0.5% – 1% CO₂, 3°C, and no control over O₂) decreased the production of alcohols, aldehydes, ketones and esters compared to apple in air (22). Head space volatile analysis indicated that "Cox's Orange Pippin" apples transferred from CA storage into air at 20°C produced lower rates of butanol, butyl- and hexyl acetate compared to similar apples ripened after harvest (2). The atmosphere of 5% CO₂ + 2% O₂ for 5.5 months almost completely inhibited the production of these volatiles. Lidster *et al.* (16) found that CA storage (3% O₂ + 5% CO₂ at 2.8°C) suppressed the head space ethanol and acetaldehyde in "McIntosh" apples

compared to similar apples stored in air at 0°C. Acetaldehyde, ethanol, ethyl butyrate and hexanal were further suppressed when the apples were stored in a more strict CA atmosphere (1.5% CO₂ + 1.5% O₂ or 1.0% O₂ + 1.5% CO₂ at 2.8°C). Low-oxygen storage over a long period (1.0% O₂ + 1.5% CO₂ for 320 days) completely suppressed the formation of these volatiles even after the apples were moved to air. Apples stored in lower-ethylene CA conditions (3% O₂ + 5% CO₂ and < 5 ppm ethylene) produced less acetaldehyde, ethyl alcohol, ethyl acetate, and ethyl butanoate than apples stored in higher ethylene CA (> 500 ppm), which in turn produced a smaller amount of these volatiles than apples held in air (6).

The suppression of odor volatiles by CA was suggested to be due to the limited supply and further metabolism of the volatiles precursors rather than to the limited enzyme activity (14). The esterifying enzymes were reported to be operating at similar rates in apple fruits stored in air or in 2% O₂ (28). Since whole apples in low oxygen atmospheres were able to esterify added alcohols as rapidly as apples in air, it was concluded that the low levels of esters in apples from low O₂ atmospheres were a consequence of low rates of alcohol synthesis (13). Alcohols were found to be produced from fatty acids supplied to excised apple tissue (24), and that oxygen was required in the synthesis of these fatty acids at the desaturation steps (8). The assumption that low levels of some esters are due to low rates in alcohol synthesis might be possible, however there are several situations that cannot be fully explained by this hypothesis. The results described in this paper show that some esters were not suppressed by a cold atmosphere. In addition, not all esters are thought to be derived through fatty acid and alcohol metabolism. For example, some amino acids were found to be the precursors of some banana esters (23, 27). The difference in the effect of CA on the different volatiles might be due to the diverse origins and pathways that lead to the production of these odor volatiles.

However, LCA maintained minimum losses in flesh firmness of "McIntosh" apples stored for about seven months, yet it caused a suppression of six of the most important flavor volatiles in the fruit. The suppression of volatiles was selective and might be related to chemical structure. Further work is needed

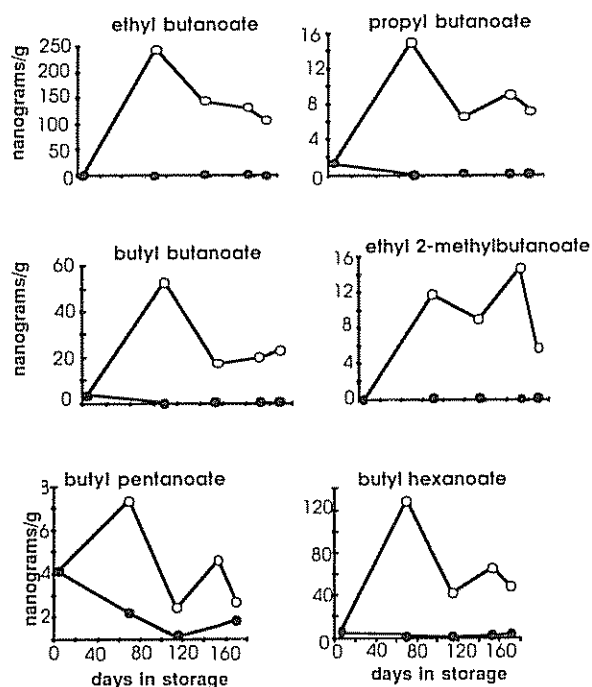


Fig. 3. The production of some odor-active volatiles in "McIntosh" during storage in air and simulated low ethylene CA (LCA).

to evaluate this hypothesis and to determine the behavior of these volatiles during the ripening of the fruit after storage.

LITERATURE CITED

1. ABELES, F.B. 1973. Ethylene in plant biology. New York, Academic Press. 302 p.
2. BLANPIED, G.D.; BARTCH, J.A.; TURK, J.R. 1985. A commercial development programme for low ethylene controlled-atmosphere storage of apples. In Ethylene and Plant Development. T.A. Roberts, G.A. Tucker (Eds.). London, Butterworth, p. 393-404.
3. BLANPIED, D.G.; YANG, S.F.; REID, M.S.; McGLASON, W.B.; KADER, A.A.; SHERMAN, M. 1984. Ethylene in postharvest biology and technology of horticultural crops. HortScience 20:39-60.
4. CUNNINGHAM, D.G.; ACREE, T.A.; BARNARD, J.; BUTTS, R.; BRAELL, P. 1986. Charm analysis of apple volatiles. Food Chemistry 19(2):137-147.
5. DIMICK, P.S.; HOSKIN, J.C. 1983. Review of apple flavorstate of the art. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 18:387-409.
6. FORSYTH, F.R.; EAVES, C.A. 1974. Ripening of apple in CA storage, low or high humidity levels. In Facteurs et Régulation de la Maturation de Fruits. Colloques Internationaux C.N.R.S. no. 238. p. 67-72.
7. GORIN, N.; RUDOLPHI, J.W.; HEIDEMA, F.T.; DEVRIES, R. 1975. Metabolites in "Golden Delicious" apples as possible parameters of acceptability. Journal of the Science of Food and Agriculture (Inglaterra) 26:599-609.
8. HARRIES, P.; JAMES, A.T. 1969. Effect of low temperature on fatty acid biosynthesis in seeds. Biochimica et Biophysica Acta 87:13-18.
9. HATFIELD, S.G.S.; PATTERSON, B.D. 1974. Abnormal volatile production by apples during ripening after controlled atmosphere storage. In Facteurs et Régulation de la Maturation de Fruits. Colloques Internationaux C.N.R.S. no. 238. p. 57-61.
10. KADER, A.A. 1986. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmosphere on fruits and vegetables. Food Technology (EE.UU.) 40(5):99-104.
11. KIDD, P.; WEST, C. 1936. Gas storage of fruits. IV. 'Cox's Orange Pippin' apples. Journal of Pomology and Horticultural Science (Inglaterra) 14:276-294.
12. KNEE, M. 1971. Ripening of apples during storage. III. Changes in chemical composition of 'Golden Delicious' apples during the climacteric and under conditions simulating commercial practice. Journal of the Science of Food and Agriculture (Inglaterra) 22:371-377.
13. KNEE, M.; HATFIELD, S.G.S. 1981. The metabolism of alcohol by apples. Journal of the Science of Food and Agriculture (Inglaterra) 32:593-600.
14. KNEE, M.; SHARPLES, R.O. 1981. The influence of controlled atmosphere storage on the ripening of apples in relation to quality. In Quality in Stored and Processed Vegetables and Fruits. P.W. Goodenough, R.K. ? (Eds.) p. 341-352.
15. KOVATS, E. 1965. Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. Advances in Chromatogr. (1):229-247.
16. LIDSTER, P.D.; LIGHTFOOT, H.J.; McRAE, K.B. 1983. Production and regeneration of principal volatiles in apples stored in modified atmosphere and air. Journal of the Science of Food and Agriculture (Inglaterra) 48:400-402, 410.
17. LIU, F.W. 1977. Varietal and maturity differences of apples in response to ethylene in controlled atmosphere storage. Journal of the American Society for Horticultural Science (EE.UU.) 102:93-95.
18. LIU, F.W. 1978. Effect of harvest date and ethylene concentration in controlled atmosphere storage on the quality of "McIntosh" apples. Journal of the American Society for Horticultural Science (EE.UU.) 103:388-392.
19. LIU, F.W. 1979. Interaction of daminozide, harvesting date, and ethylene in CA storage for "McIntosh" apple quality. Journal of the American Society for Horticultural Science (EE.UU.) 104(5):599-601.
20. LIU, F.W. 1985. Low ethylene controlled-atmosphere storage of "McIntosh" apples. In Ethylene and Plant Development. T.A. Roberts, G.A. Tucker (Eds.). London, Butterworth. p. 385-392.

21. LIU, F.W.; SAMELSON, D. 1986. Rates of changes in firmness and acidity and of ethylene production of "McIntosh" apples in simulated low-ethylene CA storage. *Journal of the American Society for Horticultural Science (EE.UU.)* 111:404-408.
22. MEIGH, D.F. 1957. Volatile compounds products by apples. II. Alcohols and esters. *Journal of the American Society for Horticultural Science (EE.UU.)* 8:313-326.
23. MYERS, M.J.; ISSENBERG, P.; WICKS, E.I. 1971. 1-Leucine as a precursor of isoamyl alcohol and isoamyl acetate volatile aroma constituents of banana fruit discs. *Phytochemistry. An International Journal of Plant Biochemistry (Inglaterra)* 9:1693-1700.
24. PAILLARD, N. 1979. Biosynthèse des produits volatils de la pomme: Formation des alcools et des esters à partir des acides gras. *Phytochemistry. An International Journal of Plant Biochemistry (Inglaterra)* 18:1165-1171.
25. PATTERSON, B.D.; HATFIELD, S.G.S.; KNEE, M. 1974. Residual effects of controlled atmosphere storage on the production of volatile compounds by two varieties of apples. *Journal of the Science of Food and Agriculture (Inglaterra)* 25:843-849.
26. SMOCK, R.M. 1979. Controlled atmosphere storage of fruits. *Hort. Rev.* 1:301-336.
27. TRESSL, R.; DRAWERT, F. 1973. Biogenesis of banana volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry (EE.UU.)* 21:560-565.
28. WILLIAMS, A.A.; KNEE, M. 1977. The flavor of "Cox's Orange Pippin" apples and its variation with storage. *Annals of Applied Biology (Inglaterra)* 78(1):127-131.
29. YAHIA, EL-HADI; LIU, F.W.; ACREE, TERRY, E.; BUTTS, ROBERTS. 1985. Odor-active volatiles in "McIntosh" apples stored in simulated low-ethylene controlled atmosphere. In *National Controlled Atmosphere Research Conference (4., 1985, Raleigh, N.C., EE.UU.)*. Proceedings. S.A. Blankenship (Ed) p. 70-81.
30. YAHIA, EL-HADI MAAWI. 1986. Changes in the flavor components in apples during maturation, ripening and storage. Ph.D. Thesis. Ithaca, New York, Cornell University. 122 p.

RESEÑA DE LIBROS

UNDERSANDER, D. et al. 1991. Alfalfa management guide. American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America; Cooperative Extension Publication, University of Wisconsin-Extension; Minnesota Extension Service, University of Minnesota. 41 p.

En este libro se reúne, en forma altamente práctica y técnica, un conjunto de recomendaciones para el establecimiento, producción y cosecha de la alfalfa. Este atributo hace que la guía sea de gran utilidad a productores, técnicos y particularmente extensionistas.

Los valores de los parámetros edáficos y agronómicos se refieren a las condiciones reinantes en los Estados Unidos de América. Sin embargo, las exigencias fisiológicas de la alfalfa son típicas (salvo

variaciones entre ecótipos, como es de esperar) y muchas de las recomendaciones agronómicas son extrapolables a otros ambientes. Estas dos razones hacen que la obra sea de interés para otros países, particularmente para aquellos con condiciones agroecológicas análogas a las regiones estadounidenses productoras de alfalfa.

Una tercera razón para recomendar esta obra es su presentación. Es muy fácil de leer, y hay en ella un balance óptimo entre lo técnico y lo práctico y una combinación magistral de artes gráficas. Esta publicación constituye un buen ejemplo de cómo divulgar en forma efectiva recomendaciones técnicas a extensionistas, productores y profesores.

MANUEL E. RUIZ
SEDE CENTRAL, IICA

Alteraciones en el Crecimiento Radical de Cultivares de Sorgo Infestados con Pulgón Verde¹

A.M. Castro*, C.P. Rumi*, H.O. Arriaga*

ABSTRACT

The aim of this work was to determine root growth behavior in greenbug (*Schizaphis graminum* Rond.) -susceptible and greenbug-tolerant sorghum cvs. (*Sorghum bicolor* Moench.) under infestation conditions. Two susceptible cvs. (NK233 and NK180) and a resistant one (BR64R) were employed. The experiment lasted only nine days to prevent chlorosis interaction with seedling growth patterns. Every three days, 20 plants, attacked and unattacked, from each cv were sampled to determine some growth parameters. Three days after infestation inhibition was detected in new foliar primordia differentiation and in the production of new nodal roots. Seminal roots elongated less and produced fewer primary and secondary branches. In the susceptible cvs foliar area was about 58% - 60% less than in the controls. Fresh weight differences amounted to 50% - 60 per cent. Dry matter production was 40% - 45% lower than the controls. Infested tolerant plants showed a decrease only in fresh weight. Aerial and root losses after nine days of infestation were independent from energetic and/or nutritional imbalances resulting from chlorotic advance and phloematic fluid extraction by the insect.

COMPENDIO

El objeto del presente trabajo fue determinar el comportamiento del crecimiento radical de cultivares susceptibles y tolerantes al pulgón verde (*Schizaphis graminum* Rond.) en sorgo granífero (*Sorghum bicolor* Moench.), en condiciones de infestación, y su correlación con el crecimiento aéreo. Se emplearon dos cultivares susceptibles, NK233 y NK180, y uno resistente, BR64R. La experiencia se condujo sólo durante nueve días de infestación para evitar la interacción de la clorosis en el crecimiento de las plantas jóvenes. Cada tres días se recolectaron de cada cultivar 20 plantas con y sin ataque y se determinaron algunos parámetros de crecimiento. A los tres días de infestación se observó en los cultivares susceptibles una inhibición en la diferenciación de primordios foliares y en la producción de nuevas raíces nodales. Las raíces seminales sufrieron una disminución en su alargamiento y en la producción de ramificaciones. El área foliar fue menor respecto a los testigos (58% - 62%); en cuanto al peso fresco, las diferencias fueron entre 50% y 60%, y la producción de materia seca alcanzó niveles entre 40% y 46% inferiores a los de los testigos. El cultivar tolerante sólo presentó diferencias en el peso fresco, inferior en las plantas infestadas. Las pérdidas ocasionadas en el desarrollo aéreo y radical en nueve días de infestación fueron independientes de los desbalances energéticos y nutricios, o ambos, causados por el avance clorótico y la extracción del líquido floemático por el insecto. Estos hechos se explicarían por los desórdenes en los mecanismos hormonales, producto de sustancias inhibitorias.

1 Recibido para publicación el 1 de agosto de 1988

Este trabajo fue parcialmente financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina.

Los autores agradecen la colaboración técnica de Cecilia S. Burgos en la traducción del compendio al inglés.

* Instituto de Fisiología Vegetal y Cátedra de Cerealicultura, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Plata, CC31, 60 y 119, CP 1900, La Plata, Argentina.

INTRODUCCION

En los últimos años el ataque de *Schizaphis graminum* Rond. ha ocasionado serios daños en la producción de sorgo granífero (*Sorghum bicolor* Moench.) en Estados Unidos de América (EE.UU.) y en Argentina. El biótipo "verde claro", prevaleciente en los cultivos de verano e invierno, fue encontrado por primera vez en sorgo (1). Los cultivos de sorgo no sólo son un eslabón más de la cadena anual del pulgón verde sino que su hospedante preferido. Es, por ello, importante conocer el comportamiento de los cultivares susceptibles y tolerantes de este cereal para establecer bases duraderas de mejoramiento genético en la resistencia a esos insectos.

Se ha señalado que el biótipo "verde claro" provoca pérdidas en el sorgo del orden del 30% en cultivares tolerantes y del 70% en los susceptibles (6). Y, sólo ocasiona retrasos en el crecimiento de cultivares tolerantes de cebada y avena (3, 5). Sin embargo, los cultivares susceptibles de cebada y avena, sometidos a similares condiciones de ataque, murieron en los primeros 12 días de infestación (2, 5); en sorgo, en cambio, las plántulas soportaron períodos más prolongados de ataque (6). El áfido ocasiona pérdidas importantes en el área foliar fotosintetizante en cereales susceptibles de invierno; en sorgo se ha determinado que el avance clorótico es lento y de menor magnitud (6).

En trabajos previos se ha señalado que el pulgón verde ocasiona mayores deterioros en el peso fresco que en la acumulación de materia seca en cebada (3) y en sorgo (6) no así en avena (4). En los cereales de invierno se ha determinado que el áfido modifica el ritmo de crecimiento y la composición del sistema radical; en cambio, en el sorgo no se conoce el efecto que produce la infestación en el crecimiento de las raíces. El objetivo del presente trabajo es determinar si el crecimiento y desarrollo radical son alterados por la presencia del áfido en cultivares susceptibles y tolerantes de sorgo, y analizar su interrelación con la producción vegetativa aérea.

MATERIALES Y METODOS

Se emplearon dos cultivares susceptibles de sorgo granífero (NK233 y NK180) y uno tolerante (BR64R) al pulgón verde. Los cultivares se sembraron en bandejas con arena. Se uniformó el plantel por su

estado de crecimiento en el largo del coleóptilo. Las plántulas seleccionadas se transplantaron a vasos individuales en un sustrato de arena. Diariamente fueron regadas con un volumen predeterminado de agua (3) y semanalmente con el mismo volumen de solución nutritiva (Hoagland, solución completa).

Las plantas se mantuvieron en condiciones ambientales naturales hasta el inicio del ataque—primera hoja expandida y segunda hoja próxima a expandirse. Al alcanzar este estado, la mitad de las plantas de cada cultivar fue infestada con 20 pulgones adultos por planta; el resto permaneció sin ataque en calidad de testigos. Desde la infestación (día cero) y cada tres días hasta la aparición de puntuaciones cloróticas (novenio día), se recolectaron muestras de 40 plantas por tratamiento en cada cultivar.

Las plantas infestadas y sus testigos se mantuvieron durante la experiencia en condiciones naturales para favorecer el estado general de las mismas. Desde las 17.00 h hasta las 8.00 h se trasladaron al interior de una cámara climática donde se prolongó el fotoperíodo a 12 h, recibiendo luz desde las 17.00 h a las 20.00 horas. El flujo lumínico fue de $580 \text{ mEm}^{-2}\text{s}^{-1}$, la humedad relativa osciló entre el 50% y el 70% y la temperatura se mantuvo entre 20°C y 22 grados centígrados. El traslado del material a una cámara climática permitió además evitar la migración nocturna de los insectos entre las distintas plantas. Durante todas las observaciones se determinó el número de insectos presentes en las plantas y se realizó la cuantificación de algunos parámetros de crecimiento (3). El número de áfidos por planta se relacionó con el área foliar total, calculándose la densidad—número de áfidos por centímetro cuadrado— como parámetro de la antibiosis presente en los cultivares. El diseño experimental empleado fue el de la parcela dividido en el tiempo.

RESULTADOS

Producción Vegetativa Aérea

La producción vegetativa aérea del ápice principal fue significativamente menor en las plantas infestadas de ambos cultivares susceptibles (NK233 y NK180) en relación con sus respectivos testigos (Fig. 1). En el cultivar tolerante no se observaron diferencias entre las plantas con y sin ataque.

En la producción vegetativa aérea se manifestaron diferencias significativas en los cultivares susceptibles a los tres días de la infestación. Por efecto del

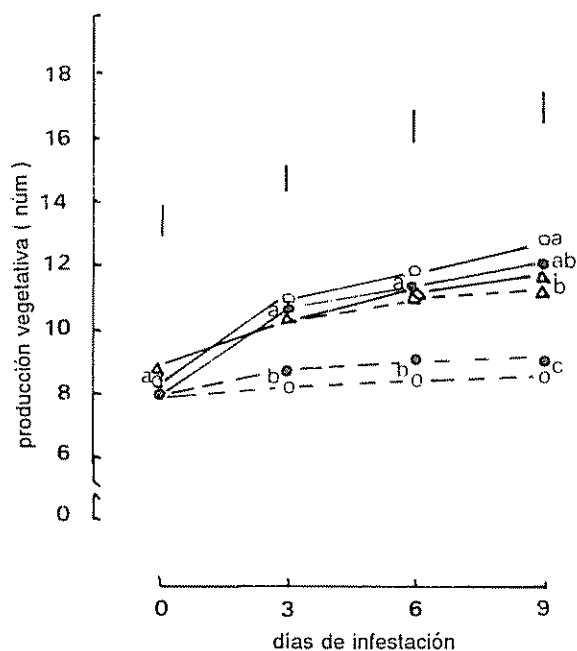


Fig. 1. Producción vegetativa aérea determinada en dos cultivares de sorgo susceptibles al pulgón verde, NK233 (Δ) y NK180 (○), y en un cultivar tolerante, BR64R (□), durante nueve días de infestación; plantas testigos (---) plantas infestadas (—). Letras diferentes en un mismo día entre los tratamientos indican diferencias significativas ($P = 0.05$). Las barras verticales señalan la mínima diferencia significativa entre dos medias sucesivas (Duncan, $P = 0.05$).

ataque, el área foliar fue menor (Fig. 2). De los dos cultivares susceptibles, el menor deterioro en la producción de biomasa aérea se observó en el cv. NK233 (29%) con respecto al determinado en el cv. NK180 (39%) a los tres días de infestación. En ese período de ataque las plantas tolerantes no mostraron diferencias.

El cv. NK180 sin ataque produjo una mayor biomasa aérea que los otros dos testigos a partir del tercer día. El número total de hojas expandidas y no expandidas, que constituyen el área foliar total, fue similar en las plantas testigos de los tres cultivares. Sin embargo, las láminas foliares en el cv. NK180 presentaron las mayores longitudes.

El ataque provocó inhibición en la diferenciación de nuevas hojas y, al mismo tiempo, alteró la actividad de los meristemas intercalares, determinando una menor longitud de láminas y vainas foliares. Como consecuencia existió un menor número de hojas expandidas en las plantas atacadas de los cultivares susceptibles.

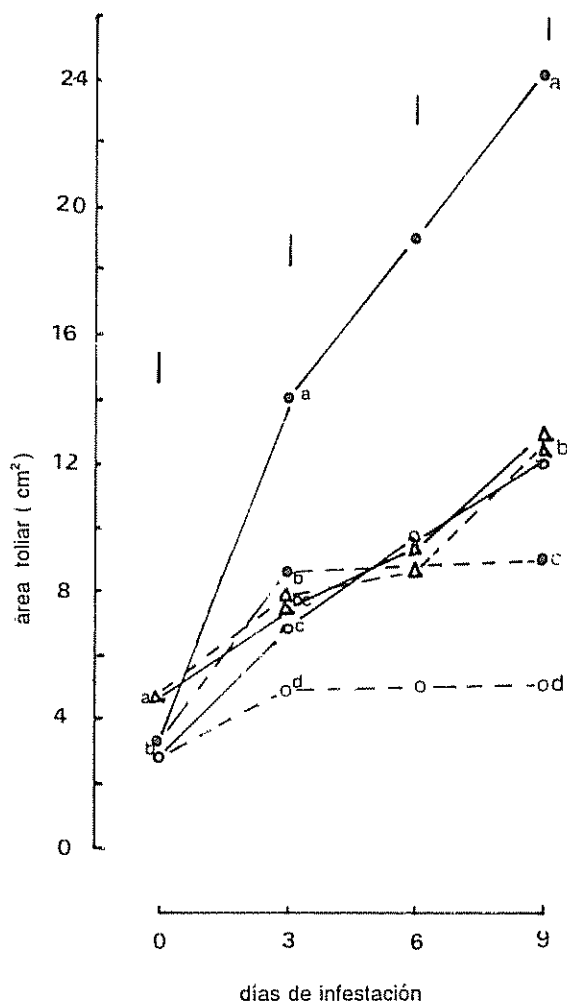


Fig. 2. Área foliar total determinada en dos cultivares de sorgo susceptibles al pulgón verde, NK233 (Δ) y NK180 (○) y en un cultivar tolerante, BR64R (□), durante nueve días de infestación; plantas testigos (---) plantas infestadas (—). Letras diferentes en un mismo día entre los tratamientos indican diferencias significativas ($P = 0.05$). Las barras verticales señalan la mínima diferencia significativa entre dos medias sucesivas (Duncan, $P = 0.05$).

Volumen Radical

El volumen radical fue significativamente inferior en las plantas infestadas de los cvs. NK233 y NK180 en relación con sus respectivos testigos y con las plantas con y sin ataque del cultivar tolerante (Fig. 3).

El menor volumen radical observado en las plantas atacadas de los cultivares susceptibles se debió a la inhibición provocada en la emisión de nuevas raíces nodales (adventicias) y en el alargamiento de

las raíces seminales y adventicias diferenciadas con anterioridad al ataque. Las ramificaciones primarias y secundarias de los ejes seminales fueron inhibidas desde el tercer día. Este conjunto de alteraciones provocó una menor biomasa radical. Al noveno día, las plantas infestadas del cv. NK233 presentaron un deterioro del 39% en relación a los testigos; en el cv. NK180 la infestación produjo una disminución del 54% en el volumen radical. Al finalizar la experiencia no se observaron diferencias entre las plantas con y sin ataque del cultivar resistente.

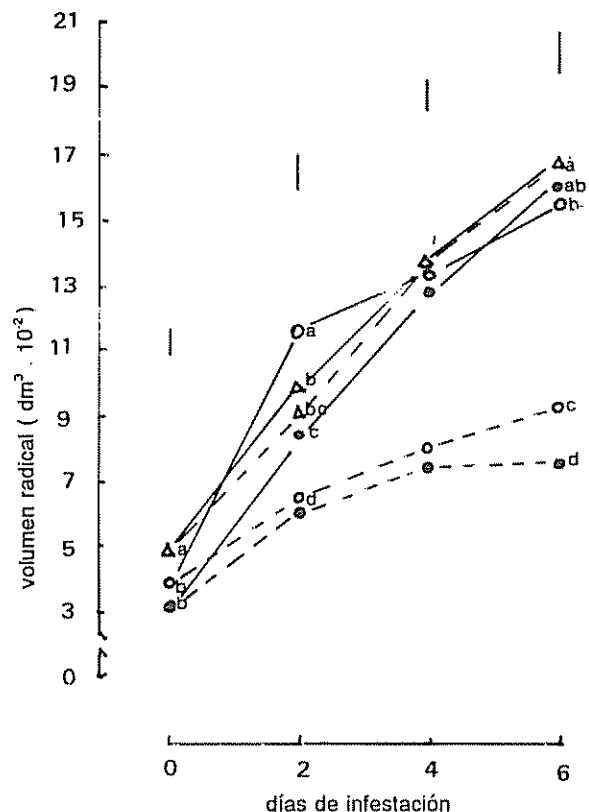


Fig. 3. Volumen radical determinado en dos cultivares de sorgo susceptibles al pulgón verde, NK233 (.) y NK180 (o), y en un cultivar tolerante, BR64R (Δ), durante nueve días de investigación; plantas testigos (-) plantas infestadas (---). Letras diferentes en un mismo día entre los tratamientos indican diferencias significativas ($P = 0.05$). Las barras verticales señalan la mínima diferencia significativa entre dos medias sucesivas (Duncan, $P = 0.05$).

Las plantas testigo del cv. NK180 presentaron un mayor desarrollo aéreo que el resto de los cultivares, sin embargo su producción radical fue similar a la de los otros cultivares. Por otro lado, el cultivar resistente, que produjo un nivel intermedio del área foliar, presentó el mayor desarrollo radical.

Peso Fresco y Seco Total: Sus Interrelaciones

Las plantas atacadas presentaron una reducción significativa ($F=0.01$) en el peso fresco total (Fig. 4). El más afectado a los tres días de infestación fue el cv. NK233 que presentó un 40% de deterioro; al finalizar la experiencia éste produjo un 50% menos que las plantas sin ataque. A los nueve días de iniciado el ataque, la producción de materia fresca en el cv. NK180 susceptible se redujo en un 60% por la infestación. En el cultivar tolerante se observó al noveno día también una reducción de menor magnitud en el peso fresco (12%).

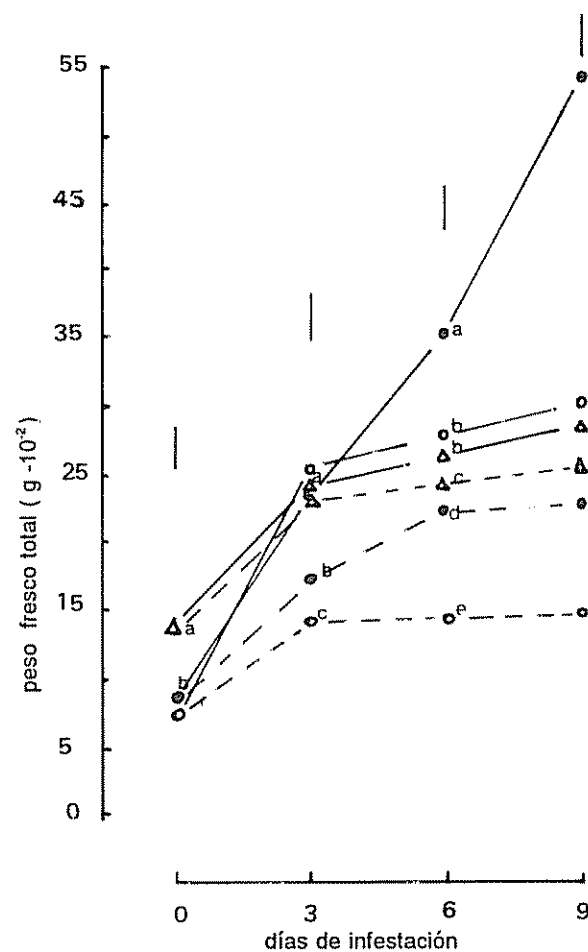


Fig. 4. Peso fresco total determinado en dos cultivares de sorgo susceptibles al pulgón verde, NK233 (.) y NK180 (o), y en un cultivar tolerante, BR64R (Δ), durante nueve días de infestación; plantas testigos (-) plantas infestadas (---). Letras diferentes en un mismo día entre los tratamientos indican diferencias significativas ($P = 0.05$). Las barras verticales señalan la mínima diferencia significativa entre dos medias sucesivas (Duncan, $P = 0.05$).

El peso fresco (PF) total y la biomasa aérea presentaron una correlación positiva significativa ($r=0.90$) en todos los cultivares con y sin ataque, a excepción del cv. BR64R. En este último, la infestación provocó una disminución en el peso fresco aunque el área foliar total fue similar a la de los testigos.

El peso seco (PS) total fue inferior en las plantas atacadas de los cultivares susceptibles (Fig. 5). Al tercer día de infestación, las plantas del cv. NK233 produjeron un 35% menos de materia seca total que los testigos, y el cv. NK180, un 45% menos. Al

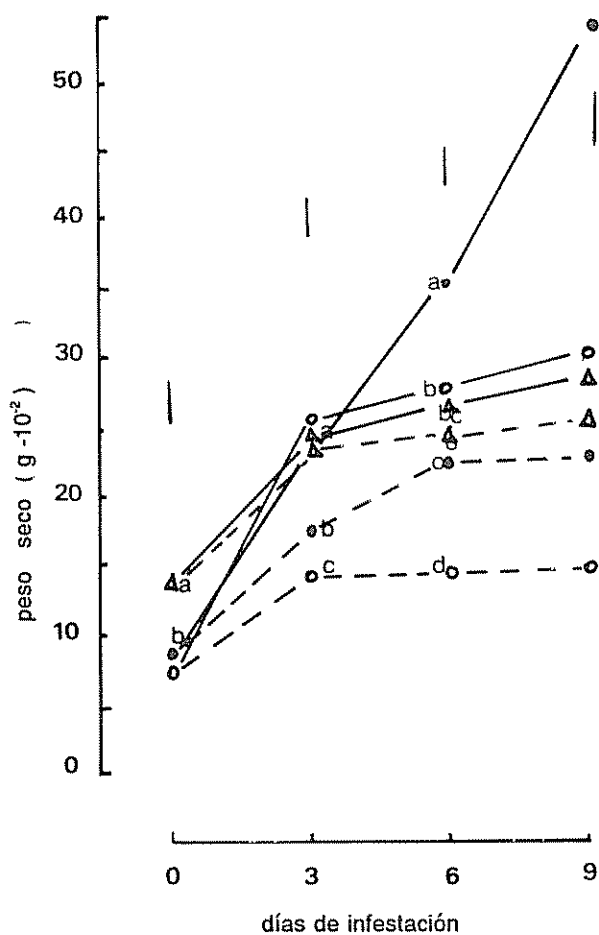


Fig. 5. Peso fresco total determinado en dos cultivares de sorgo susceptibles al pulgón verde, NK233 (.) y NK180 (o), y en un cultivar tolerante, BR64R (Δ), durante nueve días de infestación; plantas testigos (---) plantas infestadas (---). Letras diferentes en un mismo día entre los tratamientos indican diferencias significativas ($P = 0.05$). Las barras verticales señalan la mínima diferencia significativa entre dos medias sucesivas (Duncan, $P = 0.05$).

finalizar la experiencia, las diferencias con los respectivos testigos fueron del 45% en el cv. NK233 y del 40% en el cv. NK180. En el cultivar tolerante no se observaron diferencias entre las plantas con y sin infestación en cuanto a la acumulación de materia seca.

El deterioro provocado en el peso fresco por el ataque fue proporcionalmente mayor al ocasionado en el peso seco. Como consecuencia, la relación (PS/PF) . 100 fue significativamente mayor en las plantas atacadas de los cultivares susceptibles. Al noveno día las plantas del cv. NK233 presentaron los siguientes índices: con ataque, el 14%, y los testigos, un 10 por ciento. En el cv. NK180 los índices fueron del 12% y del 9 por ciento. En el cultivar resistente los dos tipos de plantas mostraron relaciones similares, a pesar de que las infestadas tuvieron un 12% menos en materia fresca.

DISCUSION

En trabajos previos se ha indicado que el ataque de *S. graminum* determina algunas alteraciones en el crecimiento de plántulas de sorgo (6, 7). Morgan *et al.* (7) han sugerido que el crecimiento podría verse afectado por alguna causa diferente a la destrucción localizada en los tejidos. Si bien no se cuantificó el deterioro radical, se señaló la posible inhibición en la producción de raíces nodales. Castro *et al.* (6) trabajaron sobre el crecimiento aéreo y determinaron que se producía inhibición en la diferenciación de nuevos primordios en el ápice caulinar. Esta acción inicial determinó pérdidas significativas del orden del 30% al 70% en los diferentes parámetros de crecimiento.

En la presente experiencia se trabajó dentro de un lapso breve de infestación para evitar la interferencia que ocasiona la clorosis. Luego de tres días de infestación los cultivares susceptibles manifestaron serios deterioros en la producción vegetativa aérea. En el momento en que se concluyó la experiencia, la producción de biomasa aérea se había reducido en un 58% a un 62% en las plantas infestadas de los cultivares susceptibles, en relación a los respectivos testigos. La menor producción aérea es una consecuencia de la inhibición en la diferenciación de nuevos primordios en el ápice caulinar y de la disminución en la actividad de los meristemas intercalares. El crecimiento radical fue severamente

inhibido desde los primeros días de la infestación. La alteración en el crecimiento radical podría ser una consecuencia de la inhibición determinada en la parte aérea o bien la causa que provocó un menor crecimiento aéreo. Como éste es un proceso integral sólo se puede indicar que uno y otro efecto son consecuencia de desbalances energético-nutricios u hormonales.

El sorgo es una especie C4 y su metabolismo es más eficiente que el de otros cereales, en los que se han indicado daños radicales similares a los determinados en el sorgo por efecto de la infestación. En esta experiencia se puede señalar que la inhibición del crecimiento no está relacionada con el área foliar clorótica que se manifestó al finalizar la infestación.

En cebada, la inhibición en el crecimiento aéreo y radical se debería al desabastecimiento en las zonas de crecimiento (3). Trabajos posteriores parecerían indicar que esta última hipótesis no es válida para explicar la acción sistémica provocada por el áfido en el crecimiento. Se ha determinado que el desabastecimiento por extracción de líquido floemático sólo explicaría el 16% de la inhibición en el crecimiento en plántulas de cebada, que se infestaron con *S. graminum* y *Macrosiphum avenae* —este último como pulgón extractor de grandes cantidades de líquido floemático.

En la presente experiencia la acumulación de materia seca continuó a un ritmo más lento en las plantas infestadas de los cultivares susceptibles hacia el final del experimento. Este hecho también indicaría que la posible explicación de la inhibición del crecimiento por efecto del desabastecimiento, no es correcta. A pesar de la inhibición aérea y radical la acumulación de materia seca no fue detenida.

El peso fresco pareció ser el parámetro más afectado, aun en el cultivar resistente; se han señalado efectos similares en cebada (3) y en sorgo (6).

Los resultados observados durante la presente experiencia en una especie C4 y en una etapa muy temprana de infestación, permitirían concluir que la inhibición del crecimiento aéreo y radical resultó ser independiente de las alteraciones energéticas o nutricias o ambas. En coincidencia con otros autores que sugieren que las alteraciones del crecimiento responden a desbalances hormonales que alterarían la división o alargamiento celular, o ambas.

LITERATURA CITADA

1. ARRIAGA, H.O.; CHIDICHIMO, H.O.; ALMARAZ, L.B.; BELLONE, B.M. 1984. Greenbug ecotype in Argentina. Ann. Plant Resistance to Insect Newsletter 10:51.
2. CASTRO, A.M.; RUMI, C.P. 1985. Efecto del ataque del pulgón verde *Schizaphis graminum* (Rond.) en la producción vegetativa (aérea y radical) en plantas susceptibles y resistentes en cebada. In Reunión Nacional de Fisiología Vegetal (16., La Plata). Resúmenes. p. 156.
3. CASTRO, A.M.; RUMI, C.P. 1987a. Greenbug damage on the aerial vegetative growth of two barley cultivars. Envir. Exp. Botany 27:263-271.
4. CASTRO, A.M.; RUMI, C.P.; ARRIAGA, H.O. 1987b. Deterioro en la producción de avena susceptible a *Schizaphis graminum* (Rond.) sometidas a un período de infestación y su posterior recuperación. Turrialba 39(1):97-105.
5. CASTRO, A.M.; RUMI, C.P.; ARRIAGA, H.O. 1988a. Influence of greenbug on root growth of resistant and susceptible barley genotypes. Envir. Exp. Botany 28(1):67-78.
6. CASTRO, A.M.; RUMI, C.P.; ARRIAGA, H.O. 1988b. Efectos de la infestación del pulgón verde *Schizaphis graminum* (Rond.) en el ritmo de crecimiento de plántulas de sorgo granífero (*Sorghum bicolor* Moench). Turrialba 40(3):292-298.
7. MORGAN, J.; WILDE, G.; JOHNSON, D. 1980. Greenbug resistance in commercial sorghum hybrids in the seedling stage. Journal of Economy Entomology (EE.UU.) 73:510-514.

Mulching an Ultisol in Southern Nigeria: Effects on Physical Properties and Yields of Maize and Cowpea¹

J.S.C. Mbagwu*

ABSTRACT

A study was carried out over two cropping seasons at Nsukka, southeastern Nigeria, to determine the minimum rate of straw mulch for optimizing the physical conditions of a fragile Ultisol and maize and cowpea yields, soil-water sorptivity, transmissivity, steady-state infiltration rate, cumulative infiltration after 90 mins, and time to attain steady-state infiltration. These proved to be optimum at the 2.0 Mg·ha⁻¹ mulch rate. Water retention and percent water-stable aggregates >0.5 mm were maximum at this rate, whereas soil compaction (measured by dry bulk density) was minimum. Evaporative moisture losses were 138%, 30%, 27% and 26% respectively, on the control 0, and 2.0, 4.0 and 8.0 Mg·ha⁻¹ mulched plots. Supra-optimal soil temperatures (>30°C) were observed only on the bare plots, whereas no significant differences in maximum soil temperature among the mulched plots were noticed. Maize and cowpea yields were optimum at the 4.0 Mg·ha⁻¹ rate, with respective increases over the bare plots of 80% and 67% at the same rate.

COMPENDIO

Se llevó a cabo un estudio durante dos períodos de cultivo en Nsukka, en el Sureste de Nigeria, con el fin de determinar la tasa mínima necesaria de residuos vegetales secos (mantillo de paja) para optimizar las condiciones físicas de un Ultisol frágil y los rendimientos de maíz y caupí; la capacidad de retención y de transmisión de agua del suelo; su velocidad de infiltración y de infiltración acumulativa después de 90 min. y el tiempo para alcanzar la infiltración uniforme. Estos fueron óptimos con una dosis de mantillo de 2.0 Mg·ha⁻¹, punto en el que la retención de agua y el porcentaje de agregados estables en agua (>0.5 mm) fueron máximos, mientras que la compactación (medida por densidad de masa seca) fue mínima. Las pérdidas de humedad por evaporación fueron de 138% en el testigo sin mantillo (0 Mg·ha⁻¹), y de 30%, 27% y 26% correspondientes a 2.0, 4.0 y 8.0 Mg·ha⁻¹ en las parcelas con tratamiento. Sólo se midieron temperaturas de suelo arriba de las óptimas (>30°C) en las parcelas sin tratamiento, mientras que no se observaron diferencias significativas en la temperatura máxima del suelo en las parcelas tratadas. Los rendimientos de maíz y caupí fueron óptimos con dosis de 4.0 Mg·ha⁻¹ que mostraron incrementos del 80% y 67% respecto de las parcelas sin tratamiento.

INTRODUCTION

In the tropics with distinct wet and dry seasons, clearing operations which leave the land surface bare predispose the topsoil to high evaporative rates and supra-optimal temperatures (>30°C) during the dry periods, and high rates of sheet and rill erosion during the wet periods. Mulching the soil

surface has been shown to reduce soil erosion (6), increase infiltration rates (10), minimise evaporation (1) and reduce soil temperature (9). The overall effect of these changes is increased yields of cereal and legume crops (8, 11). For root crops like cassava however mulching was reported not to have any effects on root yield (3).

These studies utilized high rates of straw mulches (>6 Mg·ha⁻¹). In practical terms straw mulches are not readily available and where they are entail high transportation costs. There is therefore a need to further investigate the optimum mulch rate needed for

¹ Received for publication 13 February 1989.

Financial support for this study was obtained from the Senate Research Grant Committee of the University of Nigeria, Nsukka award No. 00544/84.

* Senior Lecturer in Land Resource Conservation, Department of Soil Science, University of Nigeria, Nsukka, Nigeria.

soils in the tropics. The objective of this study was to determine the minimum amount of mulch material needed for optimizing the physical conditions of an ultisol in southern Nigeria as well as improving grain yields of maize and cowpea.

MATERIALS AND METHODS

This experiment was conducted in 1985 on the University of Nigeria Nsukka, Teaching and Research Farm, located at latitude 06°52'N and longitude 07°24'E with an elevation of 400 m above sea level. The location is within the forest-savanna transition vegetation zone and has an average annual rainfall of 1600 mm. The distribution of rainfall is bimodal with peaks in July and September. The soil is classified as an Ultisol (Oxic paleustult) with an isohyperthermic temperature regime. It is formed over false-bedded sandstone parent material and belongs to the Nsukka series.

In March 1985 the site was cleared, residues allowed to dry and then burnt in situ. The experimental layout was a randomized complete block design (RCBD). The treatments were four rates of mulch (0, 2, 4 and 8 Mg·ha⁻¹) with dried elephant grass (*Pennisetum purpureum*).

Separate trials were carried out with maize (var. TZBR, yellow) and cowpea (var. 355) as the test crops. Each crop was grown twice in the year with first planting on April 15 and the second planting on August 20. Each plot received a blanket application of 30 kg·ha⁻¹ P (as single superphosphate), 120 kg·ha⁻¹ K (as muriate of potash) and 20 kg·ha⁻¹ Mg (as hydrated magnesium sulphate). Nitrogen at 120 kg·ha⁻¹ and 60 kg·ha⁻¹ was applied on the maize and cowpea plots respectively, one third at planting and two thirds four weeks after germination. A spacing of 25 cm x 75 cm was used on each of the 2.5 m x 2.25 m plots. Planting was two per hill and later thinned down to one per hill two weeks after emergence, thus giving a planting population of 5 ha⁻¹ x 10⁴ ha⁻¹. Small plot sizes were deliberately used to ensure uniform application of the mulch materials, so the number of replications was large (six). The grain and seed yields were measured at maturity and reported at 10 per cent moisture content.

Yield on the mulched plots was compared with the unmulched (control) by computing a mulch factor 95,

$$M = \left[\frac{Y_m}{Y_c} - 1 \right] \cdot 100 \quad (1)$$

where M = mulch factor, that is the fractional increase in yield over the control due to mulch material; Y_m = yield on the mulched plot and Y_c = yield on the control plot.

At the end of the second planting season the following soil parameters were measured on the maize plots only: in situ moisture content two and ten days after saturation by Gardner's (2) method, dry bulk density with cores of 300 cm³ volume, water-stable aggregates >0.5 mm by the wet-seiving technique (5), organic matter by the dichromate oxidation method (4), and infiltration rate by the double ring infiltrometer technique. During the second season, soil temperature measurements were also taken at the flowering stage using a mercury-in-glass, bent-stem soil thermometer. The infiltration data were applied to Philip's (13) and Kostiakov's (7) models and analysed to estimate the sorptivity and transmissivity parameters thus:

Philip's Model

$$I = At + St^{1/2} \quad (2)$$

where I = cumulative infiltration (cm); S = soil water sorptivity; A = soil water transmissivity; and t = time elapsed (mins). To estimate A and S parameters, both sides of equation (2) were divided by t^{1/2} giving

$$I/t^{1/2} = At^{1/2} + S. \quad (3)$$

A plot of I/t^{1/2} against t^{1/2} gives S as the intercept and A as the slope.

Kostiakov's Model

$$I = Kt^a \quad (4)$$

where K = a soil-dependent parameter closely related to the transmission characteristics of the soil, and "a" is another soil-dependent parameter whose value varies between 0 and 1. To estimate these parameters, equation (4) was linearized thus,

$$\text{Log}_{10}I = \text{log}_{10}K + a \text{log}_{10}t \quad (5)$$

A plot of $\log_{10}I$ against $\log_{10}t$ gives $\log_{10}K$ as the intercept and "a" as the slope from where the actual value of K can be obtained from the antilog.

The cumulative infiltration was obtained after 90 minutes. By differentiating equation (2) we obtain

$$\frac{dI}{dt} = i = A + \frac{1}{2}St^{1/2} \quad (6)$$

where i = instantaneous infiltration rate at time, t . The lowest value of "i" is the equilibrium infiltration rate which has practical implications for water management studies.

RESULTS AND DISCUSSION

Water retention, bulk density, aggregate stability and organic matter content

Table 2 shows that beyond a mulch rate of 2.0 Mg ha⁻¹ no significant changes in water retention, bulk density and percent water-stable aggregates >0.5 mm due to mulching occurred. As for the residual organic matter content, the highest relative increase over the control (76 %) was also obtained at the 2.0 Mg ha⁻¹ mulch rate. Between the second and tenth day of soil moisture measurement, the percent water loss was 138, 30, 27 and 26 respectively on the control, 2.0, 4.0 and 8.0 Mg ha⁻¹ mulched plots. As two days after saturation water percolation due to gravity is deemed to have stopped, the moisture content then represents the field capacity, or for this sandy soil, the moisture held at 0.01 MPa tension. Hence between the two measurements most of the water loss is due to evaporation from the soil surface. The data therefore show, that beyond the mulch rate of 2.0 Mg ha⁻¹, again there is no significant change in evaporative moisture loss due to mulch, whereas this rate of mulch was able to reduce moisture loss by about 100 per cent in comparison with the bare plots.

The mechanisms governing evaporative moisture loss, compaction and aggregate breakdown in soils are fairly well understood. Mulches reduce the intensity of radiation and wind velocity on the soil surface with attendant reduction in the net amount of heat entering the soil. This reduction in the heat flux density into

Table 1. Some physico-chemical properties of the 0-30 cm depth Ultisol.

Parameter		Value
Coarse sand (%)	-	44
Fine sand (%)	-	28
Silt (%)	-	4
Clay (%)	-	24
pH (H ₂ O)	-	5.6
Organic Matter (%)	-	1.40
Total N (%)	-	0.081
Exch. bases (mEq/100 g)		
Na	-	0.11
K	-	0.12
Ca	-	2.40
Mg	-	0.90
CLC (mEq/100 g)	-	4.00
Aval P (Bray-1) mg/kg ⁻¹	-	6.0
Moisture retention at		
0.01 MPa (%)	-	20
1.50 MPa (%)	-	6

the soil lowers soil temperature (as will be shown later) and therefore the amount and rate of evaporation from the soil. Also by reducing the kinetic energy of the impacting raindrops on the soil surface, mulches reduce soil compaction and aggregate disintegration. This explains the lower values of bulk density and higher values of percent aggregates >0.5 mm obtained on the mulched plots, and confirms earlier observations on this soil (2).

Infiltration characteristics

Data in Table 3 indicate that soil water sorptivity, transmissivity, steady-state infiltration rate, cumulative infiltration after 90 min. and time to attain steady-state infiltration, increased with mulch rate. The general trend shows, however, that the optimum mulch rate for attaining the highest values is between 2.0 Mg ha⁻¹ and 4.0 Mg ha⁻¹. At the 2.0 Mg ha⁻¹ mulch rate the relative percentage increments over the control are 32, 450, 155, 225, 174 and 131 respectively for soil water sorptivity, Philip's soil water transmissivity, Kostiakov's soil water transmissivity, steady state infiltration rate, cumulative infiltration rate, cumulative infiltration and time to attain steady state infiltration, respectively. Such increases would generally imply less runoff, soil loss and flooding and increased aeration within the root zone.

Table 2. Effects of mulch rate on water retention (2 and 10 days after saturation), bulk density, water-table aggregates (> 0.5 mm) and organic matter content (maize plots).

Mulch rate (Mg/ha ⁻¹)	Volumetric water retained (%)		Bulk density (Mg/m ⁻³)	Water-stable aggregates (> 0.5 mm)	Organic matter (%)
	2 days after saturation	10 days after saturation			
0	19a	8a	1.48a	20.3a	1.05a
2	26b	20b	1.26b	46.5b	1.85b
4	28b	22b	1.22b	50.9b	1.92bc
8	29b	23b	1.20b	51.2b	2.03c

Within the same row, figures followed by the same letters are not significant at $P < 0.05$ using Duncan's range test.

Soil temperature

It can again be noticed from the soil temperature data in Fig. 1 that no significant differences in daily temperature variation were noticed among the 2.0, 4.0 and 8.0 Mg ha⁻¹ treatments, whereas differences between the control and any of the mulch treatments were significant especially between 12:00 h and 18:00 h. It is obvious therefore, that an application of just 2.0 Mg ha⁻¹ grass mulch is enough to reduce soil temperature within the 0 - 5 cm depth below the supra-optimal (>30°C) level. The difference in maximum daily soil temperature between the control and the 2.0 Mg ha⁻¹ treatment was 12°C. Supra-optimal temperatures, as observed on the bare plots, can reduce yields of some crops through reduction in the rate of root elongation (8).

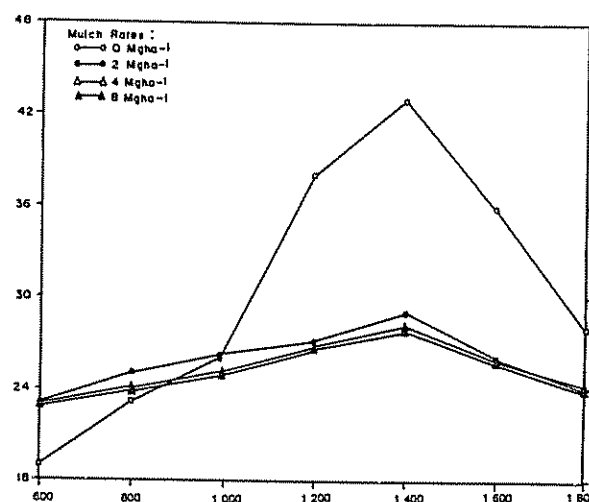


Fig. 1. Daily soil temperature variation under different mulch rates on an Ultisol in Nigeria.

Table 3. Effects of mulch rate on the water transmission characteristics of an Ultisol in Southern Nigeria (maize plots).

Mulch rate (Mg/ha ⁻¹)	Sorptivity (S)	Transmissivity ¹		Equilibrium infiltration rate (cMnr ⁻¹)	Cumulative infiltration (cm)	Time to attain equilibrium infiltration (min)
		(A)	(K)			
0	3.66a	0.06a	1.32a	25.4a	47a	26a
2	8.50b	0.33b	3.06b	82.5b	129b	60b
4	9.08c	0.48c	5.01c	85.3b	143bc	62b
8	9.39c	0.52c	5.46c	90.8b	156c	67b

¹ The sorptivity (S) and transmissivity (A) are obtained by analysis of Philip's (13) infiltration model whereas the transmissivity (K) was obtained by analysis of Kostiakov's (7) infiltration model.

Within the same row, figures followed by the same letters are not significant at $P < 0.05$ using Duncan's multiple range test.

Crop performance

In the first season of 1985 plant height differed significantly between the control and the 2.0 Mg ha⁻¹ mulched plots, but it was only during the second (drier) season that height differences among the mulch rate were significant (Table 4). In both seasons maize and cowpea yields also differed significantly among the 0, 2.0 and 4.0 Mg ha⁻¹ mulch rate after which differences were not significant.

From the mulch factor values shown in Fig. 2 it can be observed that the fractional increase in the yield of each crop at the 2.0 Mg ha⁻¹ mulch rate was higher in the second (relatively drier) than the first (relatively wetter) seasons. Considering both seasons however, it is noticed that for maize of the 80 per cent increase in yield (over the control at the 4.0 Mg ha⁻¹ mulch rate), 40 per cent was due to the 2.0 Mg ha⁻¹ rate. For cowpea of the 67 per cent yield increase at the 4.0 Mg ha⁻¹ mulch rate, 45 per cent

Table 4. Effect of mulch rate on yield of maize and cowpea on an Ultisol in Southern Nigeria (1985).

Mulch rate (Mg/ha ⁻¹)	First Season			Second Season		
	Maize height (cm)	Maize yield (Mg/ha ⁻¹)	Cowpea yield (kg/ha ⁻¹)	Maize height (cm)	Maize yield (Mg/ha ⁻¹)	Cowpea yield (Mg/ha ⁻¹)
0	179a	2.86a	152.9a	85a	1.64a	739.4a
2	204b	3.70b	213.3b	103b	2.47b	1108.6b
4	206b	5.16c	242.7c	166c	2.96c	1298.3c
8	212b	5.43c	267.2c	176d	2.98c	1342.0c

Within each row figures followed by the same letters are not significant at $P \leq 0.05$ using the Duncan's multiple range test.

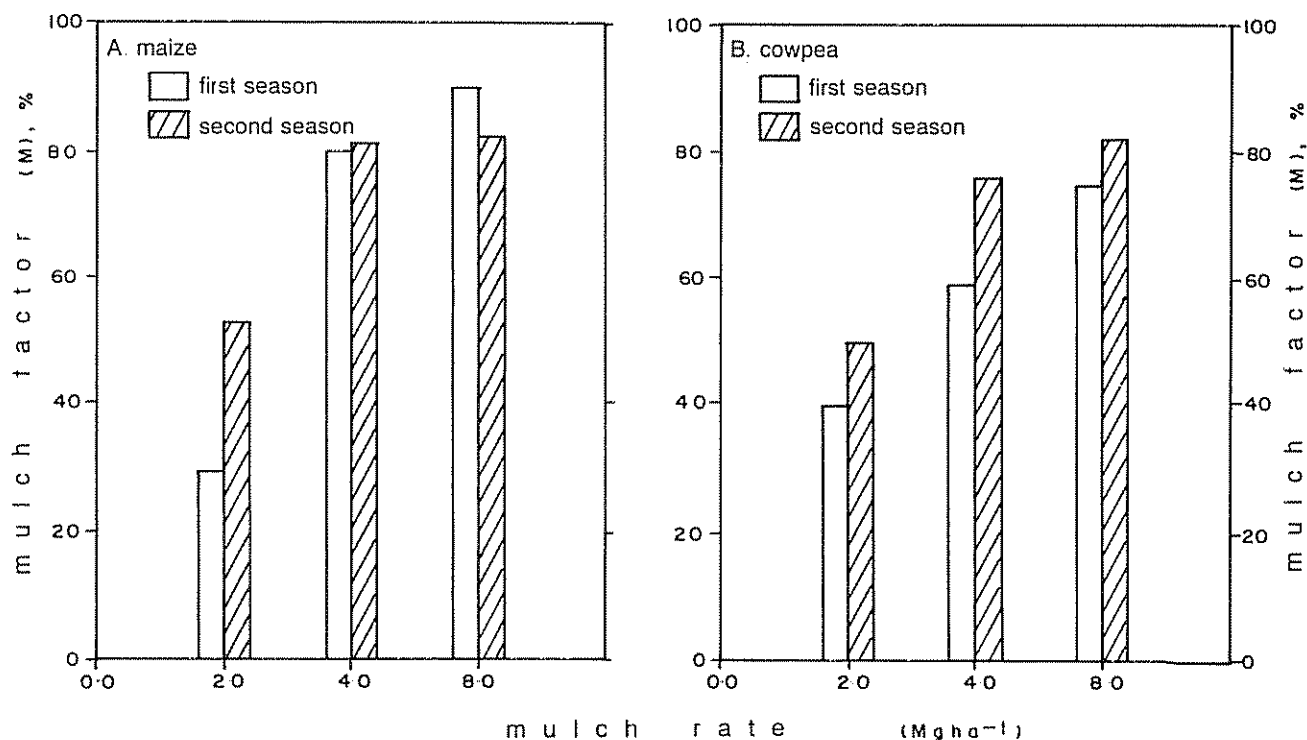


Fig. 2. Influence of mulch rate on mulch factor of maize and cowpea on an Ultisol in Nigeria. Mulch factor = $[(y_m/y_c)-1] \times 100$ where y_m = yield on mulched plot and y_c = yield on bare plot.

was due to the 2.0 Mg·ha⁻¹ rate. In practical terms therefore, the 4.0 Mg·ha⁻¹ mulch rate appears to be the ideal rate for optimizing the yields of these two crops on this soil.

CONCLUSIONS

The results of this study show that for optimizing the physical conditions and productivity of the Ultisol studied, a straw mulch rate of between 2.0 Mg·ha⁻¹ and 4.0 Mg·ha⁻¹ is ideal. Higher rates appear superfluous. Increases in yields of maize and cowpea observed at these mulch rates were accompanied by increased moisture retention within the root zone, organic matter content and soil water transmissivity; and reduced compaction, soil temperature and evaporative moisture losses.

LITERATURE CITED

1. BOND, J.J.; WILLIS, W.O. 1969. Soil water evaporation: Surface residue rate and placement effect. *Proceedings of the Soil Science Society of America* 33:445-448.
2. GARDNER, W.H. 1965. Water content. In *Methods of Soil Analysis*. I. C.A. Black *et al.* (Eds.). Madison, Wisconsin, American Society of Agronomy. p. 82-127.
3. GHUMAN, B.S.; LAL, R. 1983. Mulch and irrigation effects on plant-water relations and performance of cassava and sweet potato. *Field Crops Research* 7:13-29.
4. JACKSON, M.L. 1958. *Soil chemical analysis*. Englewood Cliffs, New Jersey Prentice-Hall. n.p.
5. KEMPER, W.D. 1965. Aggregate stability. In *Methods of Soil Analysis*. I. C.A. Black *et al.* (Eds.). Madison, Wisconsin, American Society of Agronomy. p. 511-519.
6. KHATIBU, A.I.; LAL, R.; JANA, R.K. 1984. Effects of tillage methods and mulching on erosion and physical properties of a sandy clay loam in an equatorial warm humid region. *Field Crops Research* 8:239-254.
7. KOSTIAKOV, A.N. 1932. On the dynamics of the coefficient of water percolation in soils and on the necessity for studying it from a dynamic point of view for purpose of amelioration. Paris, *Transactions International Congress of Soil Science*. p. 17-21.
8. LAL, R. 1974. Soil temperature, soil moisture and maize yield from mulched and unmulched tropical soil. *Plant Soil* 40:128-143.
9. LAL, R. 1978. Influence of within and between row mulching on soil temperature, soil moisture, root development and yield of maize (*Zea mays*) in a tropical soil. *Field Crops Research* 1:127-139.
10. LAL, R.; DE VLEESCHAUWER, D.; NGANJE, R.M. 1980. Changes in properties of a newly cleared tropical Alfisol as affected by mulching. *Soil Science Society of America Journal* (EE.UU) 44:827-833.
11. MAURYA, P.R.; LAL, R. 1981. Effects of different mulch material on soil properties and on the root growth and yield of maize (*Zea mays*) and cowpea (*Vigna unguiculata*). *Field Crops Research* 4:33-45.
12. MBAGWU, J.S.C. 1989? Influence of irrigation frequency and mulching on the productivity of an Ultisol in Southeastern Nigeria. II. Modifications in some physical properties. *Nigerian Agricultural Journal* 26: n.p.
13. PHILIP, J.R. 1957. The theory of infiltration. IV. Sorptivity and algebraic infiltration equations. *Soil Science* 84:257-264.

Almacenamiento de Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con Diferentes Grados de Dureza Inicial¹

E.M. Martínez*, J.R. González*, C.B. Ocampo*

ABSTRACT

Two hard and two soft bean varieties were kept under different storage conditions to study their performance with different cooking times. The hard varieties Amarillo and Bayo 400 reacted differently. 'Amarillo' did not harden under two of the test conditions while 'Bayo 400' hardened under three of them. With regards the two varieties considered to be "soft" at the beginning of storage, 'Michigan 800' behaved similarly to 'Amarillo', and 'Negro Huasteco' behaved similarly to 'Bayo 400'. It can thus be concluded that it is not possible to predict hardening behavior of a given bean based on initial cooking times.

COMPENDIO

Se observó el comportamiento de cuatro variedades de frijol con diferentes tiempos de cocción al inicio de su almacenamiento, dos consideradas duras y dos como suaves en diversas condiciones de humedad y temperatura. Las dos variedades que inicialmente fueron consideradas duras, 'Amarillo' y 'Bayo 400', se comportaron de forma diferente; la variedad Amarillo no se endureció bajo dos de las condiciones probadas y la variedad Bayo 400 se endureció en las tres condiciones de almacenamiento. En cuanto a las consideradas como suaves al inicio del almacenamiento, una de ellas, 'Michigan 800', tuvo un comportamiento similar a la variedad Amarillo, y la 'Negro Huasteco' tuvo uno semejante a la variedad Bayo 400. Los resultados obtenidos permiten concluir que los tiempos iniciales de cocción no permiten predecir el comportamiento del grano de frijol de estas variedades en cuanto a su endurecimiento durante el almacenamiento.

INTRODUCCION

Las leguminosas constituyen la más importante fuente de proteínas para los habitantes de las regiones del mundo en vías de desarrollo; entre ellas el frijol, *Phaseolus vulgaris* L., para varios países de Latinoamérica. Uno de los principales problemas de las leguminosas, y en particular del frijol, es el incremento en el tiempo de cocción de los granos después de haber sido almacenados. Este fenómeno ha sido estudiado desde hace tiempo (7); y aún no se ha logrado una solución única ni práctica, que permita evitar este fenómeno que afecta tanto a las compañías almacenadoras como a los consumidores.

El fenómeno del endurecimiento del grano de frijol está siendo estudiado desde diferentes puntos de vista, entre ellos: las condiciones ambientales de campo y de almacén que favorecen su desarrollo, y los cambios bioquímicos y ultraestructurales que ocurren durante su almacenamiento y que afectan su calidad nutricia y culinaria (1, 2, 3, 6, 8, 9, 11).

Los principales factores físicos que determinan el endurecimiento del grano son: humedad y temperaturas altas y períodos prolongados de almacenamiento. Sin embargo, no constituye una regla, ya que el frijol almacenado con bajos contenidos de humedad (7% - 10%) y a temperatura de 15°C, se endurece en períodos relativamente cortos, observándose diferencias entre variedades (5).

Dentro de los trabajos que, en este laboratorio, se están realizando sobre el almacenamiento de las variedades mexicanas de frijol, se consideró conveniente

¹ Recibido para publicación el 10 de febrero de 1989.

Trabajo realizado con el apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México.

* Laboratorio de Granos y Semillas, Instituto de Biología, Universidad Autónoma de México (UNAM), México, D.F. 04510, México.

llevar a cabo un estudio comparativo entre variedades con diferentes tiempos de cocción, inmediatamente después de su cosecha, con el fin de determinar si el almacenamiento, en un tiempo determinado, de aquellas variedades consideradas "suaves" y "duras" en un principio, mantiene esa misma tendencia durante y al final del mismo.

MATERIALES Y METODOS

Semilla. En estos experimentos se utilizaron cuatro variedades de frijol (*P. vulgaris* L.), especialmente cultivadas y cosechadas en Iguala, Gro. en un mismo lote y ciclo agrícola, por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (Cuadro 1).

Cuadro 1. Datos iniciales de contenido de humedad y tiempo de cocción de cuatro variedades de frijol.

Variedad ¹	Contenido de humedad (%) ²	Tiempo de cocción (h) ³
Amarillo	8.8	3:00
Bayo 400	9.2	2:30
Michigan 800	9.1	1:30
Negro Huasteco	8.5	1:30

1 Los granos de las cuatro variedades no presentaban invasión por hongos de almacén

2 Contenido de humedad promedio de ocho repeticiones

3 Tiempo de cocción promedio de cuatro repeticiones de 450 granos cada una

La variedad Amarillo tiene un hábito de crecimiento indeterminado, el tipo de planta es arbustivo con guías cortas y el color del grano es amarillo pálido y opaco. La variedad Bayo 400 tiene un hábito de crecimiento indeterminado, el tipo de planta es postrado con guías largas y el color del grano es bayo y opaco. La variedad Michigan 800, de crecimiento indeterminado, guías cortas y tipo arbustivo y color del grano blanco y opaco. La variedad Negro Huasteco, de crecimiento indeterminado, tipo arbustivo, con guías cortas y grano negro y opaco.

Contenido de humedad. Para determinar el contenido de humedad de las semillas fue utilizado el método de secado en estufa del Departamento de

Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA) (10), que consiste en pesar muestras por duplicado de 5 g a 10 g de semilla cada una y en colocarlas en una estufa de circulación forzada de aire a 103°C por 72 horas. El contenido de humedad del lote original de cada variedad fue determinado con ocho repeticiones.

Tiempo de cocción. Para determinar el tiempo de cocción fue utilizado el método Jones y Boulter (4) modificado: Se colocaron 450 semillas en una olla de peltre con dos litros de agua hirviendo. Este volumen se mantiene constante al agregar agua hirviendo durante el tiempo que dura la prueba. Cada media hora a partir de la primera hora y media inicial se sacan 50 semillas y se presionan entre los dedos índice y pulgar, considerándose que están cocidos si el frijol cede a la presión de los mismos y no presenta grumos. La muestra estará cocida si 45 de los granos (90%) están cocidos.

Micoflora. Para determinar el número y clase de hongos que invadieron las semillas durante su almacenamiento, se procedió a sembrar en malta-agar (6% cloruro de sodio) 25 granos de frijol de cada repetición, previamente desinfectados con una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante dos minutos. Los granos fueron incubados durante siete días a 26°C y luego se procedió a la cuantificación de granos invadidos y a la identificación de los hongos.

Almacenamiento del grano. Tres experimentos, con diferentes condiciones de humedad y temperatura, se llevaron a cabo con la finalidad de demostrar si el grado de dureza de las variedades en el momento de su cosecha, tiene una relación directa con el grado de endurecimiento a través y al final de un período de almacenamiento dado. Para ello se seleccionaron cuatro variedades, dos de las cuales, 'Amarillo' y 'Bayo 400', presentaron tiempos de cocción inicial más prolongados que las variedades Michigan 800 y Negro Huasteco (Cuadro 1).

Almacenamiento del grano en una humedad relativa de 80% y 26 grados centígrados. Sesenta y cuatro unidades experimentales de 200 g cada una fueron colocadas al azar en cámaras de almacenamiento a 26°C y con una humedad relativa del 80%, la cual se mantuvo con una solución saturada de sulfato de amonio (12); el grano fue almacenado durante 120 días. El grano fue muestreado a los 30 d, 60 d, 90 d y 120 d,

determinándose en cada muestreo el contenido de humedad, el tiempo de cocción y la micoflora.

Almacenamiento del grano con bajo contenido de humedad y a 26 grados centígrados. El contenido de humedad del grano fue de 8.5% en la variedad Amarillo; 9.2%, en la variedad Bayo 400; 9.1%, en la variedad Michigan 800, y de 8.5%, en la variedad Negro Huasteco. Ochenta unidades experimentales de 200 g cada una fueron colocadas al azar en cámaras de almacenamiento con una temperatura de 26 grados centígrados. El período de almacenamiento fue de 300 días. Los muestreos se hicieron a los 60 d, 120 d, 180 d, 240 d y 300 d, determinándose la humedad del grano, el tiempo de cocción y la microflora.

Almacenamiento del grano de frijol en una humedad relativa de 85% y a 75 grados centígrados. Se utilizaron 32 unidades experimentales de 200 g cada una, las que fueron colocadas al azar en cámaras con una humedad relativa del 85 por ciento. Esta humedad relativa se mantuvo con una solución saturada de cloruro de potasio (12). La temperatura de almacenamiento fue de 35 grados centígrados. Bajo estas condiciones, el grano se almacenó por 14 d; realizándose un muestreo intermedio a los siete días y determinándose en cada muestreo el contenido de humedad, el tiempo de cocción y la micoflora.

RESULTADOS Y DISCUSION

Almacenamiento del grano de frijol con bajo contenido de humedad. Los resultados se muestran en el Cuadro 2. El contenido de humedad del grano a los 300 d de almacenamiento estuvo entre 9.0% y 9.9 por ciento. La variedad Amarillo no presentó incrementos en el tiempo de cocción durante los 300 d que duró el almacenamiento. La variedad Bayo 400 a los 60 d de almacenamiento tuvo un incremento de una hora en su tiempo de cocción, el cual se mantuvo hasta los 300 días. La variedad Michigan 800 incrementó en media hora su tiempo de cocción a los 60 d, manteniéndose así durante los 300 d de almacenamiento. La variedad Negro Huasteco incrementó su tiempo de cocción en media hora a los 60 d y 120 d, con un incremento de media hora tanto a los 180 d como a los 240 d y manteniendo un tiempo de cocción de tres horas a los 300 d de almacenamiento. En la variedad Amarillo no hubo incremento en el tiempo de cocción durante los 300 d de almacenamiento. La variedad Bayo 400, cuyo

tiempo de cocción se incrementó en una hora, fue al final la que requirió mayor tiempo de cocción. En la variedad Michigan 800 solamente se incrementó en media hora su tiempo de cocción y la 'Negro Huasteco' tuvo un incremento en hora y media. En esta prueba de almacenamiento, aun con bajos contenidos de humedad del frijol y con una temperatura intermedia (26°C), se presenta el fenómeno de endurecimiento, y el comportamiento de las cuatro variedades en cuanto a su tendencia a endurecerse, es similar al de las otras dos pruebas de almacenamiento que a continuación se describen.

Cuadro 2. Tiempo de cocción* (h) de cuatro variedades de frijol almacenadas con bajo contenido de humedad durante 300 días a una temperatura de 26°C.

Variedad	Periodo de almacenamiento (d)					
	0	60	120	180	240	300
Amarillo	3:00	3:00	3:00	3:00	3:00	3:00
Bayo 400	2:30	3:30	3:30	3:30	3:30	3:30
Michigan 800	1:30	2:00	2:00	2:00	2:00	2:00
Negro Huasteco	1:30	2:00	2:00	2:30	3:00	3:00

* Tiempo de cocción Promedio de cuatro repeticiones de 450 granos de cada una
El contenido de humedad a los 300 días de almacenamiento fue de 9.0 a 9.9 por ciento

Almacenamiento del grano de frijol en una humedad relativa de 80 por ciento. Los resultados se muestran en el Cuadro 3. El contenido de humedad del grano al final de los 120 d de almacenamiento fluctuó entre 19.2% y 19.5 por ciento. A los 30 d se observó un incremento en el tiempo de cocción de dos horas en la variedad Negro Huasteco, de hora y media en 'Bayo 400' y de media hora en 'Michigan 800'; la variedad Amarillo no cambió su tiempo de cocción en relación con el tiempo inicial. A los 60 d, la variedad Amarillo no incrementó el tiempo de cocción, mientras que las variedades Negro Huasteco, Bayo 400 y Michigan 800 aumentaron sus tiempos de cocción en tres horas, dos horas y hora y media, respectivamente. A los 90 d, las cuatro variedades tuvieron los mismos tiempos de cocción que a los 60 días. A los 120 d las variedades Bayo 400 y Negro Huasteco no cocieron y las variedades Amarillo y Michigan 800 incrementaron su tiempo de cocción en dos y dos horas y media, respectivamente. Las variedades Negro Huasteco y Bayo 400 fueron las que

más rápidamente se endurecieron. La variedad Negro Huasteco que inicialmente tenía el menor tiempo de cocción se endureció rápidamente y ya no coció a los 120 días. Por otra parte, la variedad Amarillo, que inicialmente tuvo el tiempo de cocción más largo, incrementó su endurecimiento hasta después de los 90 días de almacenamiento.

Cuadro 3. Tiempo de cocción* (h) de cuatro variedades de frijol almacenadas durante 120 días en una humedad relativa del 80% y 26°C.

Variedad	Período de almacenamiento (d)				
	0	30	60	90	120
Amarillo	3:00	3:00	3:00	3:00	3:00
Bayo 400	2:30	4:00	4:30	4:30	NC**
Michigan 800	1:30	2:00	3:00	3:00	4:00
Negro Huasteco	1:30	3:30	4:30	4:30	NC

* Tiempo de cocción. Promedio de cuatro repeticiones de 450 granos cada una.

** NC = sin cocción

El contenido de humedad a los 120 días de almacenamiento fluctuó entre 19.2 y 19.5 por ciento

Almacenamiento del grano de frijol en una humedad relativa de 85 por ciento. Los resultados se muestran en el Cuadro 4. En esta prueba de endurecimiento acelerado se almacenó el grano por sólo 14 d, ya que después de ese tiempo el grano es severamente invadido por hongos del almacén. El contenido de humedad a los 14 d de almacenamiento fue de 14.4% y 14.7% para las variedades Amarillo y Bayo 400, respectivamente, y de 16.0% para las variedades Michigan 800 y Negro Huasteco. Las variedades Amarillo y Michigan 800 mantuvieron su mismo tiempo de cocción inicial; no así las variedades Bayo 400 y Negro Huasteco que tuvieron incrementos de una hora y media y dos horas, respectivamente. Al igual que en las otras dos pruebas de almacenamiento, las variedades tuvieron comportamientos similares en relación con su tendencia a endurecerse.

Por los resultados obtenidos en esta prueba de almacenamiento, se puede decir que las variedades Amarillo y Michigan 800 —la primera considerada como "dura" y la segunda como "suave"— tuvieron el mismo comportamiento en el almacenamiento, con

una menor tendencia a endurecerse. Por otra parte, las variedades Bayo 400 y Negro Huasteco tendieron a endurecerse más rápidamente, no obstante que la última era considerada como suave al inicio de la prueba. Por los resultados obtenidos en este trabajo, se puede decir que no es posible aseverar que una variedad que al principio del almacenamiento se considera como dura, va a endurecerse más rápidamente que una que se considera suave; y que una suave va a endurecerse más lentamente que una dura.

Cuadro 4. Tiempo de cocción* (h) de cuatro variedades de frijol almacenadas durante 14 días en una humedad relativa de 85% y 35°C.

Variedad	Período de almacenamiento (d)		
	0	7	14
Amarillo	3:00	3:00	3:00
Bayo 400	2:30	3:00	4:00
Michigan 800	1:30	1:30	1:30
Negro Huasteco	1:30	2:30	3:30

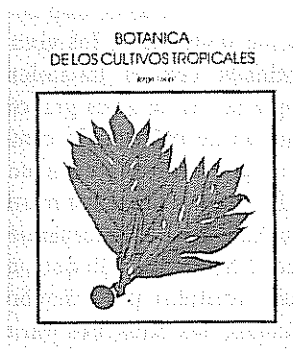
* Tiempo de cocción. Promedio de cuatro repeticiones de 450 granos cada una.

El contenido de humedad a los 14 días de almacenamiento fue de 14.4% y 14.7% para las variedades Amarillo y Bayo 400 y de 16.0% para las otras dos

En cuanto al desarrollo de hongos en los granos almacenados con bajo contenido de humedad, no se detectaron; debido a que el contenido de humedad del grano no lo permitió. Igualmente no se observó desarrollo de hongos en granos almacenados durante 14 d en una humedad relativa del 85%; esto tal vez se debió a que la incipiente invasión de los granos por los hongos fue eliminada con el tratamiento de hipoclorito de sodio que se les da a los granos antes de colocarlos en el medio de cultivo. En cambio, sí hubo desarrollo de hongos en los granos de frijol almacenados durante 120 d en la humedad relativa del 80 por ciento. A los 120 d de almacenamiento, a excepción de la variedad Michigan 800 que presentó el 63% de los granos invadidos por miembros del grupo *Aspergillus glaucus*, las otras tres variedades presentaron más del 80% de los granos invadidos por *A. glaucus*. Se desconoce el papel que estos hongos puedan tener en el endurecimiento del grano. Algunos investigadores señalan la conveniencia de eliminar los hongos mediante sustancias químicas (6).

LITERATURA CITADA

1. AGUILERA, J.M.; STANLEY, D.W. 1985. A review of textural defects in cooked reconstituted legumes: The influence of processing and storage. *Journal of Food Processing Preservation (EE UU.)* 9:145-149.
2. ELIAS, G.L. 1982. Conocimientos actuales sobre el proceso de endurecimiento del frijol. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición (Ven.)* 32:234-257.
3. JACKSON, M.G.; VARRIANO-MATERSON, E. 1981. Hard-to-cook phenomenon in beans: Effects of accelerated storage on water absorption and cooking time. *Journal of Food Science (EE.UU.)* 46:799-803.
4. JONES, P.M.B.; BOULTER, D. 1983. The cause of reduced cooking rate in *Phaseolus vulgaris* L. following adverse storage conditions. *Journal of Food Science (EE.UU.)* 48:623-626.
5. MORENO, M.E.; RAMIREZ, G.J. 1987. Comportamiento de siete variedades de frijol almacenadas bajo diferentes temperaturas. *Turrialba (C.R.)* 37:155-160.6.
6. MOSCOSO, W.; BOURNE, M.C.; HOOD, L.F. 1984. Relationships between the hard-to-cook phenomenon in red kidney beans and water absorption, puncture force, pectin, phytic acid, and minerals. *Journal of Food Science (EE.UU.)* 49:1577-1579.
7. SNYDER, E.B. 1936. Some factors affecting the cooking quality of the pea and great northern types of dry beans. College of Agriculture, University of Nebraska Agricultural Experiment Station. *Research Bulletin (EE.UU.)* no. 85. 31 p.
8. STANLEY, D.W.; AGUILERA, J.M. 1985. A review of textural defects in cooked reconstituted legumes: The influence of structure and composition. *Journal of Food Biochemistry* 9:277-323.
9. STANLEY, D.W. 1986. Multiple mechanisms of bean hardening. *Journal of Food Technology* 21:731-750.
10. USDA (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE). 1979. Grain equipment manual GR. 916-6. Federal Grain Inspection Service, Standardization Division, Richard Gabauer A.F.B., Kansas City, Mo.
11. VINDIOLA, O.L.; SEIB, P.A.; HOSENEY. 1986. Accelerated development of the hard-to-cook state in beans. *Cereal Foods World* 31:538-552.
12. WINSTON, P.W.; BATES, D.H. 1960. Saturated solutions for the control of humidity in biological research. *Ecology (EE.UU.)* 41:232-237.

LIBRO
RECOMENDADO

US\$18.00

Botánica de los Cultivos Tropicales. J. León. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. 445 p. ISBN 92-9039-132-4.

Presenta los conceptos básicos sobre el origen, diversidad, forma y estructura de los cultivos tropicales y su aplicación en las fases de mejoramiento y manejo. Se presenta un ordenamiento sistemático de los cultivos por familia y especies, según el sistema de clasificación fitogenética de J. Hutchinson. Su propósito es servir de material de consulta sobre las regiones tropicales de Latinoamérica.

Ver lista de publicaciones disponibles para la venta y boleta de solicitud en la última sección de la revista Turrialba.

Histology and Gibberellin Levels in Healthy and Diseased Maize (*Zea mays* L.) Roots Affected by "Mal de Río Cuarto"¹

M.C. Tordable*, N. Tavecchio**, E. Lorenzo*, G. Abdala*

ABSTRACT

The histology of roots of healthy maize plants and those affected by "Mal de Río Cuarto," was studied in correlation with their endogenous levels of free gibberellins. The results obtained indicate that the maize rough dwarf virus (MRDV) produces severe alterations in the central cylinder, lignification of that structure and the endodermis, and abnormal lateral roots with presence of abortive ones. Gibberellin (GA) analyses were performed on sequential gradient-eluted reversed-phase C₁₈-HPLC, and isocratic eluted Nucleosil-HPLC, and assayed with the dwarf rice bioassay. Diseased roots showed quite different GA-like substance profiles compared with those determined for healthy roots. These results indicated that MRDV produces histophysiological modifications in maize roots, also affecting GA metabolism.

COMPENDIO

En el presente trabajo se estudió la histología de raíces de plantas de maíz sanas y las atacadas por el Mal de Río Cuarto, en correlación con los niveles endógenos de giberelinas en sus formas libres. Los resultados obtenidos indican que el virus del enanismo áspero en maíz (MRDV), agente de la enfermedad, produce severas alteraciones en el cilindro central, lignificación de dicha estructura y de la endodermis, y raíces laterales anormales con presencia de raíces abortivas. El análisis de giberelinas se llevó a cabo mediante gradientes secuenciales sobre HPLC fase reversa, C₁₀ y Nucleosil, y bioensayo de arroz enano cv. Tanginbozu. Las raíces de las plantas afectadas mostraron un perfil muy diferente al obtenido de raíces de plantas sanas. Estos resultados señalan que el virus MRDV produce modificaciones histofisiológicas en las raíces, afectando probablemente el metabolismo de las giberelinas.

INTRODUCTION

A maize (*Zea mays* L.) disease called "Mal de Río Cuarto" was recorded for the first time during 1976 near Río Cuarto, Córdoba, Argentina. The pronounced damage caused by the disease on some plants produced great concern to the

growers, especially as seed losses were up to 90% during 1979, and almost 80% in 1981 and subsequent years.

The characteristic symptoms of the disease described by Nome *et al.* (20), Lenardón and March (14) and Lenardón *et al.* (15), are short internodes, small leaves with enations, and general stunting. Stems appear flattened and glassy. The size of early-infected plants is reduced by about one third of normal ones. Proliferation of ears, two or three ears with almost no kernels on the same node, and proliferation of small tassels with incomplete male inflorescence can also be observed; male flowers are sterile, erect and small; and the volume of the radical system is usually reduced.

Nome *et al.* (20) related this disease to the maize rough dwarf virus (MRDV). They found virus-like particles present in the parenchymatic phloem cells of

¹ Received for publication 9 February 1990.

This work was supported by a grant from CONICET, CONICOR and 477 PROGRAM from Río Cuarto University. The authors wish to thank Ings. G. March and A. Marinelli of the Agronomy Faculty of Río Cuarto University for their kind help in the identification of infected plants in the field; and Profs. R.P. Pharis and E. Yeung of the University of Calgary, Canada, for their advice.

* Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de Río Cuarto, 58000 - Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

** Fellowship holder from Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, Argentina).

roots and stems. Milne *et al.* (16) and Milne and Boccardo (17) subsequently confirmed this finding.

As one of the main symptoms of "Mal de Río Cuarto" is the shortening of internodes (dwarfism) and a reduced radical system, MRDV might affect the hormonal regulation of growth, altering synthesis, metabolism and/or transport of hormones. Short internodes, general stunting and small leaves are characteristics of lack of GA's, all symptoms of plants infected by MRDV.

Several GAs have been identified in tassels and shoots of maize: GA₁, GA₈, GA₁₂, GA₁₇, GA₁₉, GA₂₀, GA₂₉, GA₄₄ and GA₅₃ (8, 9, 10). It has recently been suggested that GAs may regulate normal root growth at a much lower concentration range than shoot growth; also, roots synthesize GAs which are transported to shoots (3, 5, 6, 18, 23).

There are only a few studies on growth regulators in infected plants. Russell and Kimmins (24) showed a decrease in the level of a substance GA₃, as in barley yellow dwarf virus-infected plants, suggesting that dwarfism was a result of reduced mitotic activity related to the lowered level of endogenous gibberellins. Application of GA₃ to infected individuals reversed the dwarfing effect and increased cell elongation. However, Bailiss (1) studied the relation between GAs and the "early disease syndrome" of aspermy virus in tomato, reporting that growth decreased by virus infection could not be overcome by exogenous GA₃.

In a previous work (4), MRDV infection was shown to mainly affect vascular tissues of first and second basal stem nodes and internodes. Phloem presented hyperplasia with proliferating cells which had lost their structure and typical disposition. Also a xylem mass in an abnormal position was observed, with abundant vessel members and tracheids of thick walls and often obliterated by an unknown substance. The analysis of free active GAs proved that MRDV would affect the endogenous levels of these phytohormones; however, significant differences were not found in relation to conjugated forms.

The objectives of this study were to compare the morphological and histological alterations caused by MRDV in healthy and affected roots of maize plants; examine the changes of the endogenous free ethyl acetate-soluble GA-like substances in both, infected

and healthy tissues, and the correlation between the hormonal level and the dwarf symptom.

MATERIALS AND METHODS

Roots from healthy and MRDV-infected plants of maize (*Zea mays* L.) (hybrid Morgan 400), were collected from the field in Río Cuarto. Two samples were taken, the first in December 1986, when enations in leaves were evident and plants were approximately 1.20 m high; and the second in January 1987, when diseased plants showed the characteristic symptomatology, at the flowering stage.

Morphological studies

For morphological observations tissues were fixed in FAA (formaldehyde: AcOH:EtOH:H₂O; 30:5:50:15; v/v). For optical microscopy analysis adventitious and lateral roots were obtained by simple excision (Fig. 1).

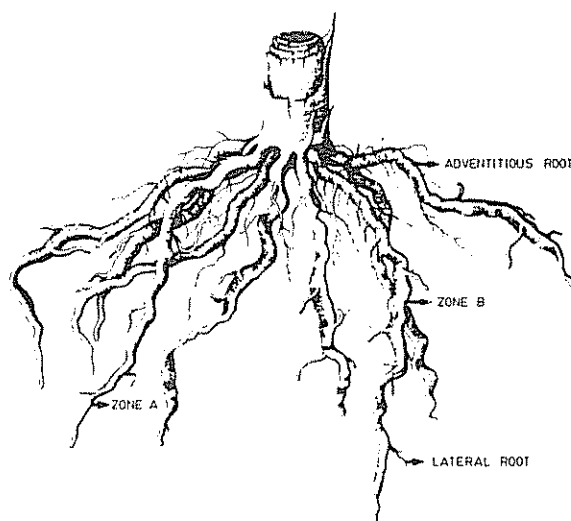


Fig. 1. *Zea mays* L. Diagram representing radical system exomorphology from an MRDV affected plant of maize.

In adventitious roots two zones were selected: apparently normal roots (Fig. 1; Zone A) and flattened roots (Fig. 1; Zone B), and then dehydrated in graded series of ethanol and ethanol:xylol mixture and embedded in paraffin. Serial 13-15 μ m thick sections were obtained and stained using hematoxylin-safranin-fast green (11). The microtomic sections were observed in a C. Zeiss optical microscope.

Analysis of GA-like substances

Five grams of fresh weight (FW) roots were homogenized with 40 ml of 80% aqueous MeOH and liquid nitrogen in a mortar. The supernatant was removed and the residue re-extracted with an extra 20 ml of MeOH. The supernatants were pooled, filtrated and eluted through a reversed phase C_{18} column (13). After adjusting it to 50% MeOH by adding distilled water, the eluate was submitted to a second C_{18} column, then washed with an additional 20 ml 40% MeOH. The solvent was evaporated under vacuo and the remaining water freeze-dried. The residue obtained contained free and conjugated forms of gibberellins.

SiO₂ partition column chromatography

The extract containing free and conjugated GAs was loaded onto a "short" SiO₂ partition column (13) by using 0.5 g of celite. The elution was first performed with a mixture of EtOAc:n-hexane (95:5) and then with 100% MeOH, in order to separate free, highly water soluble GAs from glucosyl conjugates and most of the highly water soluble very polar GAs (such as GA₃₂). Then, the free GA-fraction was evaporated under vacuo and chromatographed in a second SiO₂ column prepared as detailed by Durley *et al.* (7) and Powell and Tautvydas (22), the elution was carried out with a step-by-step 5% gradient of EtOAc (from 0 to 100%) in n-hexane (from 100 to 0%). Twenty four 10 ml fractions were collected, dried and tested on the dwarf rice cv. Tan-ginbozu bioassay (1/50 dilution). After this step, fractions were pooled again and gibberellins {1,2 (n) - ³H} GA₁, specific activity 1.21 TBq mmol⁻¹ (Amersham) and {1,2 (n) - ³H} GA₄, specific activity 1.4 TBq mmol⁻¹ (Amersham) were added as internal standards.

HPLC

Fractions coming from healthy roots were analyzed onto a Nucleosil N(CH₃)₂ - HPLC eluted with 99.9% MeOH in 0.1% AcOH for 50 min at a flow rate of 1 ml min⁻¹. For each of the 50 fractions collected, a bioassay was performed at 1/50 and 1/100 dilutions.

Due to the presence of more impurities, fractions coming from diseased roots were first subjected to reversed-phase C_{18} Z-module HPLC with the following solvent program: 0 to 30 min linear

gradient from 37% to 100% MeOH in 0.1% AcOH, then 30 to 50 min 100% MeOH and at flow rate of 1 ml min⁻¹. Twenty five fractions of 1 min each (0 - 25 min), five fractions of 2 min each (26 - 35 min), and a bulk during 15 min more were collected and bioassayed (1/50 and 1/100 dilutions). Groups of bioactive fractions from both collection dates (December 1986 and January 1987) were pooled and injected onto a Nucleosil N(CH₃)₂ - HPLC eluted as above. Forty five fractions of 1 min and a bulk of 15 min more were collected and bioassayed at the same dilutions.

Bioassay

To measure GA-activity, the dwarf rice (*Oryza sativa* cv. Tan-ginbozu) a microdrop assay (19) modified by using 0.5 μ l application drop and measured after 48 h, was performed on each fraction eluted from SiO₂, C_{18} - HPLC and Nucleosil - HPLC columns. The biological activity was expressed as ng of GA₃ equivalents per g FW of maize tissues.

RESULTS

Macroscopic analysis

Macroscopic observations have shown that roots of infected plants were reduced compared with those of healthy plants, presenting flat zones and a decreased number of lateral roots which are shorter and esclerified. The radical system lost its typical aspect of "head of hair", characteristic of fibrous roots. Adventitious roots presented flattened zones and longitudinal ripping, nevertheless microscopy examination has not revealed necrosis or any kind of alterations.

Microscopy analysis

Adventitious root (Fig. 1; Zone A)

In Fig. 2 evident alterations were observed in the central cylinder; phloem poles presented their sieve-tube members partially or completely occluded by a light-brown unknown substance, which was deposited on the wall of sieve-elements conferring to them a non characteristic thickness. Deposition of that substance advanced towards cell lumen. The infection began in phloem tissue, progressing to the xylem, endodermis and pericycle; cells constituting these tissues normally

have thick and lignified walls; however, the grade of lignification is greater in affected roots than in healthy ones. Xylem showed vessels with reduced lumen, occupied by accumulation of an unknown material which dyed intense red. Xylem parenchyma was also affected; likewise, the parenchyma develops in

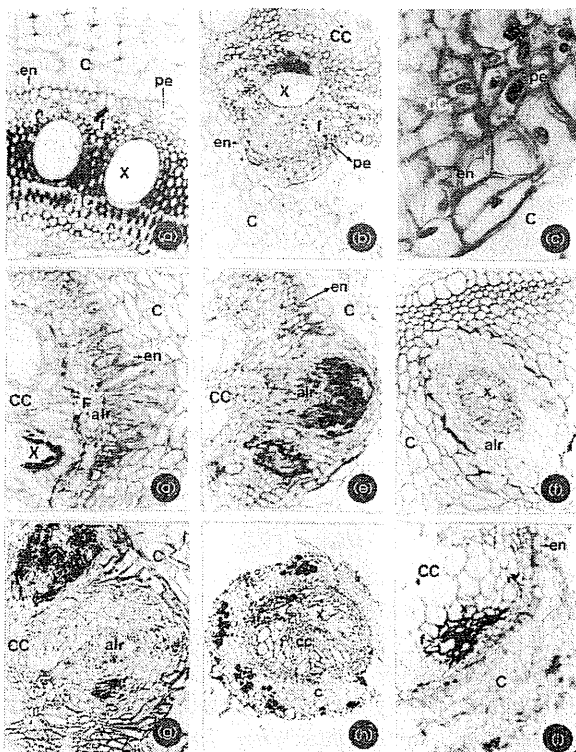


Fig. 2. *Zea mays* L. A – F Adventitious root transversal microtomic sections (Zone A, Fig. 1) showing in a) Alterations in central cylinder. B: Formation of abortive lateral root. C: Detail of radical primordia showed in b) with anomalous endodermis. d) Detail of thick and enlarged endodermis cells. e) Abortive lateral root with high grade of necrosis. f) Lateral root immerse in the cortex of an adventitious root. g) Adventitious root transversal microtomic sections (Zone B, Fig. 1) showing evident disorganization in the lateral root primordia cells, which did not advance in its formation. h) Lateral root transversal microtomic sections indicating severe alterations in central cylinder. i) Detail of H presenting a phloem pole and xylem elements thick and partially occluded.

Photographs a), b), e), g), h) and i) belongs sample collected on December/1986 and B, C, F to January/1987 a), b), d), e), f), g) and i) x 89; c) x 444 and L) x 36).

Abbreviations: alr, abortive lateral root. C, cortex. CC, central cylinder. en, endodermis. F, phloem. pe, pericycle. X, xylem.

relation to metaxylem elements, differentiating as vessels members (of varying size) replacing the parenchymatic cells.

In all diseased adventitious roots we found formation of abortive lateral roots; these had a direct relation to previous alterations described in the central cylinder. Apparently, abortive roots (Fig. 2b) showed an initial normal development with predominant periclinal cell division in the pericycle and in the parenchyma cells belonging to the adjacent central cylinder zone. In a like manner, the endodermis began its cell division and, as is known, this layer intervenes in root primordia formation (2). As the orientation of cell divisions were disordered, endodermal tissue was not able to accompany primordia growth.

In some zones of the primordia (Fig. 2c), enlarged endodermis cells remained included, circled by other cells constituting the external limit of radical primordia. The endodermis showed excessive thickening of cell walls (Fig. 2d).

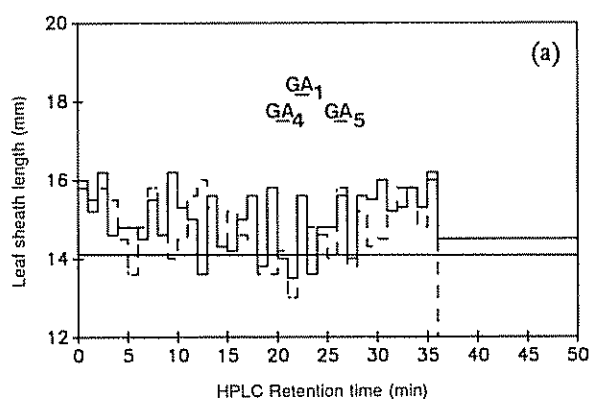
In healthy roots meristematic activity related to growth initiation of lateral roots was preceded by important changes in the de-lignification and remotion of secondary walls (2, 12). This phenomenon did not occur in diseased roots, so this zone either became necrotic (Fig. 2e), or the growth of the incipient root did not advance. In some cases, lateral roots were formed, reaching the cortex and remaining arrested in that zone (Fig. 2f); its disposition was parallel to the main axis of the adventitious root, taking place from the exodermis to the endodermis.

Adventitious root (Fig. 1; Zone B)

Alterations of adventitious roots were similar to the previous description; phloem poles were occluded and it was possible to distinguish enlargement of cells. The xylem, endodermis and pericycle showed the same alterations. Formation of abortive lateral roots which did not rise the cortex was frequent; an incorrect orientation of cell division was observed (Fig. 2g); the endodermis presented enlarged cells with thick walls rounding up the primordia. Disorganization of tissues advanced until general necrosis; some lateral roots emerged but were frequently abnormal, while others were normal and able to ramify.

Lateral root

In both Zone A and B (Fig. 1), infected plants presented some normal lateral roots with their central cylinder showing the typical polyarch structure; other lateral roots had an altered central cylinder, with the polyarch structure (Fig. 2h) impossible to identify. Several phloem poles were differentiated, although the xylem had an irregular aspect, with no poles and occupying almost all the space of the central cylinder. Thick and necrotic phloem poles, with vessels partially occluded by the same unknown substance present in adventitious roots, were also observed (Fig. 2i). Despite these alterations the presence of endodermis was identified, but there was no pericycle.



Analysis of gibberellins

Qualitative distribution of free GA-like substances in healthy and diseased maize roots assayed by dwarf rice (*Oryza sativa* L. cv. Tan-ginbozu) are summarized in Figs. 3, 4 and 5.

Roots of healthy plants collected in December 1986 (Fig. 3a) showed a very low level of free acid GAs. On the other hand, roots of diseased plants contained higher levels of these substances (Fig. 3b). A sharp peak eluted in fr 13 - 14 (Rt of authentic ^3H -GA₁ of C₁₈ - HPLC; a second peak running just before Rt of GA₂₀ was determined at min 18, and a lower bioactive zone was also present between min 23 - 26 (Rt of GA₄ and GA₉).

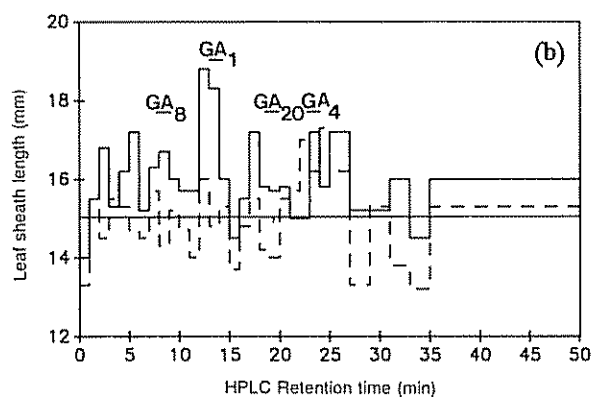


Fig. 3. a) Elution profile of free GA-like substances from healthy roots determined on Nucleosil-HPLC and bioassayed at 1/50 (solid line) and 1/100 (dashed line) dilutions. Collection December/1986. b) Elution profile of free GA-like substances from diseased roots determined on C₁₈ - HPLC and bioassayed at 1/50 (solid line) and 1/100 (dashed line) dilutions. Collection December/1986.

Ordinate: Rice leaf sheath length (mm).

Abscissa: Fractions obtained from HPLC-chromatography.

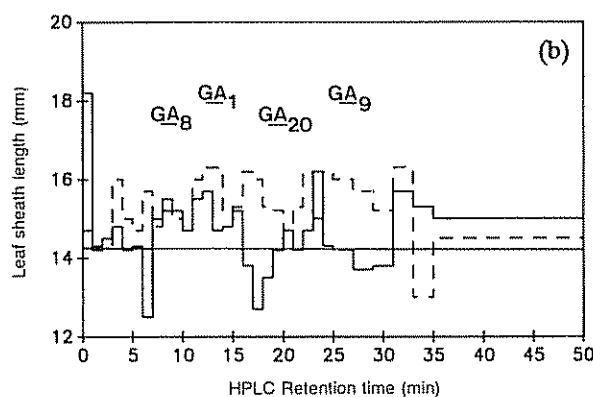
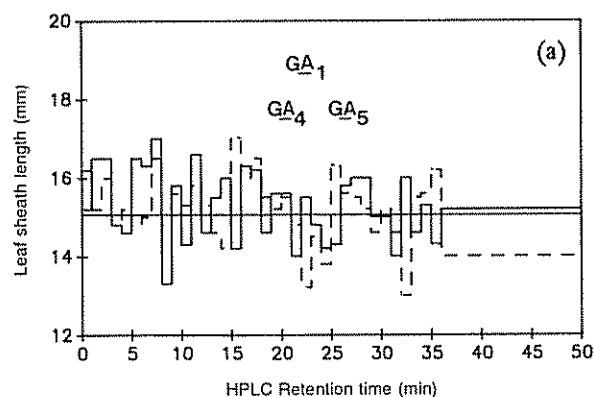


Fig. 4. a) Elution profile of free GA-like substances from healthy roots determined on Nucleosil-HPLC and bioassayed at 1/50 (solid line) and 1/100 (dashed line) dilutions. Collection January/1987. b) Elution profile of free GA-like substances from diseased roots determined on C₁₈ - HPLC and bioassayed at 1/50 (solid line) and 1/100 (dashed line) dilutions. Collection January/1987.

Ordinate: Rice leaf sheath length (mm).

Abscissa: Fractions obtained from HPLC-chromatography.

Roots collected in January 1987 did not show significant differences between healthy and diseased ones (Fig. 4a and 4b).

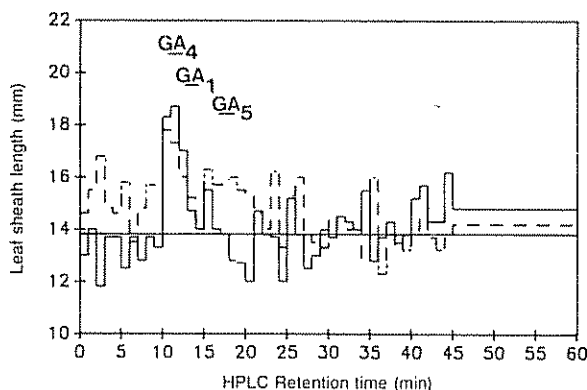


Fig. 5. Elution profile of free GA-like substances from diseased roots determined on Nucleosil-HPLC and bioassayed at 1/50 (solid line) and 1/100 (dashed line) dilutions. Both collection dates grouped (December/1986 and January/1987).

Ordinate: Rice leaf sheath length (mm).
Absissa: Fractions obtained from HPLC-ghromatography.

Figure 5 is a bioactive profile of grouped fractions from diseased roots, from collections in December 1986 and January 1987 analyzed on Nucleosil $N(CH_3)_2$ - HPLC. The same sharp peak of Fig. 3B eluting at Rt of GA_1 was found; minor active zones were also present.

DISCUSSION

Earlier, Castillo *et al.* (4) described the histological alterations caused by MRDV infection in basal nodes and internodes of maize shoots. These authors found that phloem and xylem tissues were those presenting more anomalies. Our studies on histopathology of maize roots affected by "Mal de Río Cuarto" also showed dramatic alterations in their structure, mainly in the central cylinder.

MRDV-virus determined the presence of abnormal lateral roots as well as a great number of abortive lateral roots. There was a clear lignification of endodermis and central cylinder in diseased roots. All these modifications may reduce fibrous root volume and, occluded sieve-tubes members and xylem vessels may also disturb transport of nutrients, hormones and other metabolites from root to shoot.

With regard gibberellins, our results indicated that diseased roots collected in December 1986, when enations in leaves were evident, showed a different profile with enhanced levels of bioactivity of endogenous free GA-like substances, in comparison with that found for healthy roots.

The main region of GA-like activity (Fig. 3b) in diseased roots was associated with Rt of authentic 3H - GA_1 standard. The reduced concentration of free GA-like substances in healthy roots may cause root growth and possibly internode elongation. This is in agreement with Tanimoto's (1987) results regarding the indispensable role played by GAs in root elongation at very low concentrations.

On the other hand, higher levels of GAs in diseased roots may imply that transport of free GAs to shoots or their catabolism might be prevented by virus attack.

The presence of biologically active GAs can be regulated by rate of biosynthesis including the metabolic conversion to an active form like GA_1 .

Although a number of GAs have been identified in maize, Phinney (21) has postulated GA_1 as the only active GA in the elongation of *Gramineae* stem plants, especially in maize. Although our results might suggest a relationship between dwarfism in maize infected by MRDV and endogenous GA-level, quantification of endogenous GAs in healthy and diseased tissues, using more definitive methods (e.g. GC-SIM with stable-isotope-labeled internal standards) is required. The poor understanding of how virus-induced changes in host growth regulators causing alterations in growth, development and metabolism reflects the paucity of current knowledge of how endogenous regulators work in healthy plants. A greater understanding of the morphological and physiological basis of diseased plants will lead plant breeders to improve genotypes of maize in the search for more resistant varieties.

LITERATURE CITED

1. BAILLIS, K.W. 1968. Gibberellins and the early disease syndrome of Aspermy virus in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Annals of Botany 32:543-551.

2. BELL, J.K.; McCULLY, M.E. 1970. A histological study of lateral root initiation and development in *Zea mays* L. *Protoplasma* 70:179-205.
3. CARR, D.J.; REID, D.M.; SKENE, K.G.M. 1964. The supply of gibberellins from the root to the shoot. *Planta* 63:382-392.
4. CASTILLO, N.; TAVECCHIO, N.; LORENZO, E.; ARDALA, G. 1989. Histología y análisis hormonal de nudos y entrenudos de plantas de maíz (*Zea mays* L.) sanas y atacadas por el MRDV, agente del Mal de Río Cuarto. *Revista de la Universidad Nacional de Río Cuarto*. v. 8.
5. CROZIER, A.; REID, D.M. 1971. Do roots synthesize gibberellins? *Canadian Journal of Botany* 49:967-975.
6. DATHE, W.G.; SEMBDNER, G.; YAMAGUCHI, I.; TAKAHAHI, N. 1982. Gibberellins and growth inhibitors in spring bleeding sap, roots and branches of *Juglans regia* L. *Plant and Cell Physiology* 23:115-123.
7. DURLEY, R.C.; CROZIER, A.; PHARIS, R.P.; McLAUGHLIN, G.E. 1972. Chromatography of 33 gibberellins on a gradient eluted silica gel partition column. *Phytochemistry* 11:3029-3033.
8. FUJIOKA, S.H.; YAMANE, H.; SPRAY, C.; GASKIN, P.; MacMILLAN, J.; PHINNEY, B.; TAKAHASHI, N. 1988. Qualitative and quantitative analyses of gibberellins in vegetative shoots of normal, dwarf 1, dwarf 2, dwarf 3 and dwarf 5 seedlings of *Zea mays* L. *Plant Physiology* 88:1367-1372.
9. HEDDEN, P.; PHINNEY, B.O.; HEUPEL, R.; FUJII, D.; COHEN, H.; GASKIN, P.; MacMILLAN, J.; GRAEBE, J.E. 1982. Hormones of young tassels of *Zea mays* L. *Phytochemistry* 21:390-393.
10. HEUPEL, R.C.; PHINNEY, B.O.; SPRAY, C.R.; MacMILLAN, J.; HEDDEN, P.; GRAEBE, J.E. 1985. Native gibberellin and the metabolism of (¹⁴C) gibberellin A₂₃ and of 17-¹³C, 17-³H₂ gibberellin A₂₀ in tassels of *Zea mays* L. *Phytochemistry* 24:47-53.
11. JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. New York, McGraw-Hill. v.5, v.6, v.7. p. 3-503.
12. KARAS I.; McCULLY, M.E. 1973. Further studies of the histology of lateral root development in *Zea mays* L. *Protoplasma* 77:243-269.
13. KOSHIOKA, M.; TAKENO, K.; BEALL, F.D.; PHARIS, R.P. 1983. Purification and separation of plant gibberellins from their precursors and glucosyl conjugates. *Plant Physiology* 73:389-406.
14. LENARDON, S.L.; MARCH, G.J. 1985. *Cartilla-guía*. UNRC-INTA.
15. LENARDON, S.L.; MARCH, G.J.; BEVIACQUA, J.E.; ORNAGHI, J.A.; MARINELLI, A. 1987. *Maíz: Mal de Río Cuarto*. CREA AACREA.
16. MILNE, R.G.; BOCCARDO, G.; DALBO, E.; NOME, S.F. 1983. Association of maize rough dwarf virus with "Mal de Río Cuarto" in Argentina. *Phytopathology* 73:1290-1292.
17. MILNE, R.G.; BOCCARDO, G. 1984. Descriptions of plant viruses Set 18. *Plant Reovirus Group no. 294*.
18. MURAKAMI, Y. 1968. A new rice seedling bioassay for gibberellins "Microdrop method" and its use for testing of rice and morning glory. *Bot. Mag. (Tokio)* 81:33-43.
19. MURAKAMI, Y. 1968. Gibberellin-like substances in roots of *Oryza sativa*, *Pharbitis nil* and *Ipomoea batatas*, and the site of their synthesis in the plant. *Bot. Mag. (Tokio)* 81:334-343.
20. NOME, S.F.; LENARDON, S.L.; RAJU, B.C.; LAGUNA, I.G.; LOWE, S.K.; DOCAMPO, D. 1981. Association of reovirus like particles with Enfermedad de Río Cuarto of maize in Argentina. *Phytopath. Z.* 101:7-15.
21. PHINNEY, B.O. 1985. Gibberellin A₁ dwarfism and shoot elongation in higher plants. In *Plant Growth Regulators International Symposium*. M. Kutacek (Ed.). Liblice, Czechoslovakia.
22. POWELL, L.E.; TAUTVYDAS, K.J. 1967. Chromatography of gibberellins on gel partition columns. *Nature (London)* 213:292-293.
23. PROCHAZKA, S. 1981. Translocation of growth regulators from roots in relation to the stem apical dominance in pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. In *Structure and Function of Plant Roots*. R. Brouwer *et al.* (Eds) Martinus Nijhoff, W. Junk Publishers, The Hague. p. 407-409.
24. RUSSELL, S.L.; KIMMINS, W.C. 1971. Growth regulators and the effect of Barley Yellow Dwarf Virus on Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Annals of Botany* 35:1037-1043.

Una Variante Micelias Albina de *Septoria lycopersici* SPEG¹

A. Perelló*, S. Wolcan*, H. Alippi**

ABSTRACT

Morphological and histopathological characteristics of a nonsporulating *Septoria lycopersici* Speg. mycelial-type variant are presented. Its stability was tested under several conditions and pathogenicity compared to that of pycnidiospores and secondary (free) conidia. The variant resulted as pathogenic as conidia, though less than the pycnidiospores. Lesions caused by this mycelium are identical to the ones caused by spores, except that pycnidia are not present. Mycelium penetration and growth in the host coincide with the behavior observed in infections from pycnidiospores.

COMPENDIO

En el presente trabajo se describen las características morfológicas e histopatológicas de una variante micelias albina no esporulante de *Septoria lycopersici* Speg. Se analizó su estabilidad en distintas condiciones y se comparó la patogenicidad del micelio albino, de conidios secundarios (libres) y de picnidiosporas. El micelio albino resultó tan patogénico como los conidios secundarios, pero menos que las picnidiosporas. El tipo de lesiones ocasionado por el micelio albino fue idéntico al causado por las esporas, excepto por la ausencia de picnidios. La penetración, y posterior desarrollo de este micelio en el tejido hospedante, coincidió con el comportamiento observado para las infecciones originadas por picnidiosporas.

INTRODUCCION

El hongo causante de la viruela del tomate, *Septoria lycopersici* Speg., produce normalmente picnidiosporas en medios de cultivo. En algunos sustratos pobres, desarrolla sólo conidios secundarios (libres) cuya patogenicidad sobre tomate, según Kurozawa y Balmer (15), es dudosa. Por otra parte, en algunas ocasiones se observó sobre APG un mutante blanco micelias no esporulante que, inoculado sobre plantas de tomate, ha resultado más agresivo que las picnidiosporas (14) o no infectivo (17). En los

presentes ensayos se observó también una variante albina de tipo micelias (AM).

Esta investigación tuvo por objeto estudiar la morfología, fisiología y patogenicidad de la variante AM, y determinar si existe diferencia entre la virulencia de las picnidiosporas, conidios secundarios y micelio albino.

MATERIALES Y METODOS

Origen de la variante AM

La variante AM de *Septoria lycopersici* se obtuvo en dos circunstancias: a) a partir de un cultivo típico (estromático) se lograron colonias monospóreas sobre agar Czapek; b) en una colonia típica cultivada sobre APG y mantenida por transferencia de masas de esporas durante varias generaciones, apareció un sector micelias albino. Con este material se realizaron los estudios morfofisiológicos y patogénicos de la variante.

1 Recibido para publicación 15 de diciembre de 1988.
Se agradece al Ing. Santiago Sarandón por su apoyo en la resolución del análisis estadístico.

* Ings. Agrs., Becaria de Perfeccionamiento e Investigadora Asistente de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, Cátedra de Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de la Plata (UNLP), calle 60 y 119 (1900), La Plata, Buenos Aires, Argentina.

** Ing. Agr. Profesor Titular de la Cátedra de Fitopatología, Facultad de Agronomía, UNLP, Buenos Aires, Argentina.

Morfología y fisiología de las colonias

Se observó el comportamiento de la variante AM en distintos medios de cultivo. Estos se sembraron con trocitos de agar y micelio de 3 mm de diámetro, tomados con un sacabocados, del borde de las colonias miceliarias. Las colonias se incubaron en las siguientes condiciones: a) cámara climática a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ con un fotoperíodo de 12 h de luz (3500 lux) y el agregado de luz cercana a la ultravioleta (365 nm); b) en laboratorio (luz natural y entre 13°C y 20°C); y c) oscuridad continua a 20 ± 2 grados centígrados.

Los medios ensayados fueron agar de papa glucosado: APG (1); agar Czapek: AC (1); agar V_8 : AV_8 (20); agar Czapek Dox V_8 : $ACDV_8$: (6); agar glucosa: AG (15); agar tomate: AT (filtrado de 300 g de hojas de tomate trituradas, 17 g de agar y c.s.p. 1000 ml de agua destilada); agar pimiento: AP (filtrado de 300 g de hojas de pimiento trituradas, 17 g de agar y c.s.p. 100 ml de agua destilada); agar extracto de malta con peptona y levadura: AMPL (30 g de extracto de malta, 5 g de peptona bacteriológica, 2 g de extracto de levadura, 17 g de agar y c.s.p. 1000 ml de agua destilada); agar de Joham: AJ (12); agar nutriente: AN (23); agar sodio y levadura: ASL (18) y agar sodio y levadura sucrosado: ASLS (18).

Se realizaron observaciones diarias sobre el crecimiento y el aspecto de las colonias.

Patogenicidad

Se realizaron ensayos para determinar la patogenicidad de la variante AM y para comparar la agresividad del micelio albino, las picnidiosporas y los conidios secundarios.

Las pruebas se condujeron en invernáculo (18°C - 24°C ; 85% - 95% HR). Se inocularon plantas de tomate de la variedad Platense Línea 7, al estado de seis hojas. Se pulverizaron con una suspensión de esporas o de fragmentos miceliarios cuya concentración se ajustó con el hemacitómetro de Neubauer. Posteriormente se mantuvieron 72 h en cámara húmeda.

Se emplearon dos plantas por maceta y 10 macetas por tratamiento. A los 15 días de la inoculación se realizó la evaluación utilizando una escala de valores de 0 a 5 (Fig. 1), considerando el área foliar necrosada de las tres hojas centrales de cada planta.

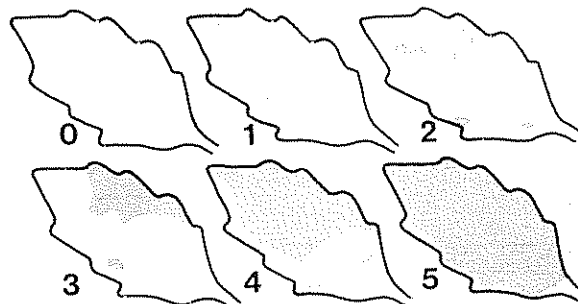


Fig. 1. Escala de infección de *S. lycopersici* sobre folíolos de tomate. Valores al 0 a 5.

Los datos se compararon estadísticamente mediante un análisis de variancia. Las diferencias mínimas significativas (DMS) se analizaron según la prueba de Tukey (P: 0.01).

- Las plantas de tomate se inocularon con micelio de colonias "jóvenes" (15 d) y "viejas" (cuatro meses) cultivadas en APG. El inóculo consistió en una suspensión de fragmentos miceliarios obtenidos de acuerdo con la técnica de Andrus (3). La concentración de ajustó a 3.5×10^6 fragmentos por mililitro.
- Se comparó la agresividad de las picnidiosporas obtenidas a partir de un cultivo típico (estromático) con los conidios secundarios del mismo origen y con el micelio proveniente de la variante AM. Los tres tipos de inóculo se obtuvieron a partir de colonias de 15 días, desarrolladas sobre AMPL, AG y APG, respectivamente. La suspensión de inóculo se ajustó a una concentración de 1.2×10^6 esporas o fragmentos miceliarios por mililitro.

Histopatología

Con el objeto de realizar el estudio histopatológico del micelio albino y de las esporas de *S. lycopersici*, se aplicó la técnica de aclaramiento y tinción desarrollada por Alippi (2).

RESULTADOS

Origen de la variante AM

- a) La mayoría de las colonias reprodujo el tipo cultural parental (estromático) y unas pocas presentaron características del tipo miceliar albino.

Su aspecto fue mucoso y brillante, de color blanco y sin desarrollo de fructificaciones (Fig. 2). Las mismas se mantuvieron estables luego de sucesivas transferencias.

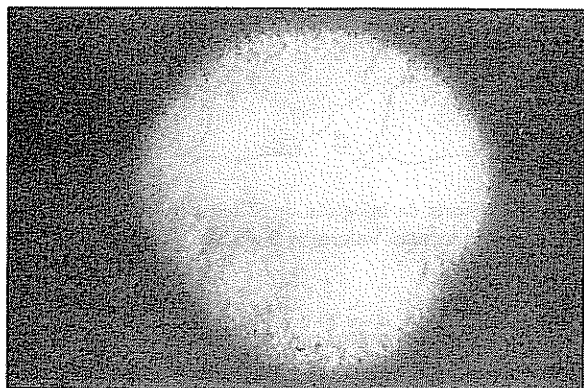


Fig. 2. Colonia de la variante AM de *S. lycopersici* sobre APG. Observación a los ocho días (x 2.5).

b) El sector albino inicial desarrollado en la colonia típica produjo micelio blanco, algodonoso, compacto y afiltrado. Microscópicamente se observaron hifas hialinas, largas, agrupadas en haces tipo "cordé" (19). Bajo el micelio

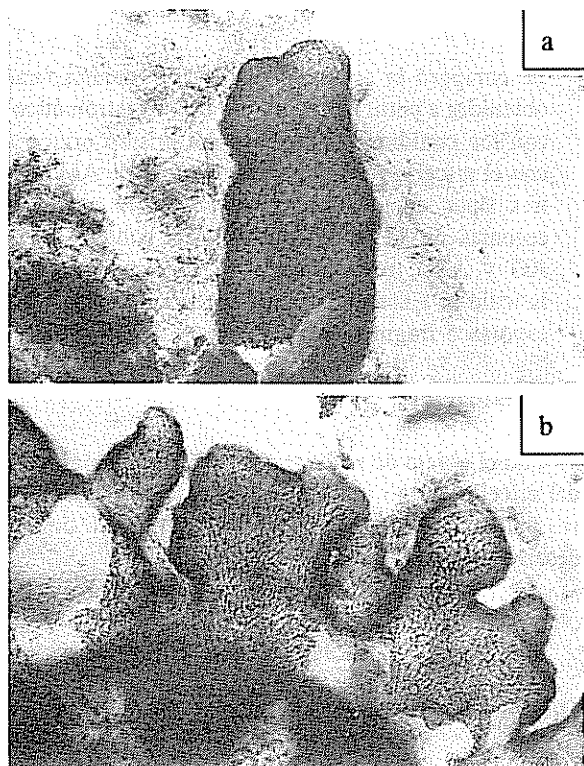


Fig. 3. Picnidios anormales desarrollados sobre el sector miceliar de *S. lycopersici* a) Forma alargada (x 260), b) forma irregular (x 130).

desarrollaron picnidios anormales: alargados (Fig. 3a) o irregulares (Fig. 3b), que produjeron esporas de forma y tamaño típicos. Luego de algunas transferencias sucesivas en APG se obtuvieron colonias albinas de tipo miceliar puro (sin fructificaciones). Estas características se mantuvieron estables.

Morfología de las colonias

No hubo diferencia de comportamiento entre las colonias incubadas según los tratamientos indicados en a), b) y c). Sin embargo, hubo variación entre los distintos medios.

A los 21 días de la siembra se observó que sobre APG, AMPL y ACDB el diámetro de las colonias varió entre 30 mm y 36 mm; hubo desarrollo de micelio albino, algodonoso y muy denso, que provocó depresiones y elevaciones irregulares en la superficie de los medios. En APG se observó zonación.

Sobre AV₈, ASLS y AP, los diámetros oscilaron entre 23 mm y 30 mm; desarrolló micelio albino, denso, pulverulento, con depresiones irregulares en AV₈ y ASLS y radiadas en AP.

Sobre el resto de los medios los diámetros de las colonias variaron entre 2 mm y 11 mm, con poco desarrollo miceliar blancuzco, de tipo pulverulento en ASL, mucilaginoso y brillante en AN y rosado en AJ. Se observó difusión al agar de pigmentación rosada en los medios APG, ASLS, ASL, AMPL y AC.

Entre los 15 y 35 días se produjo el envejecimiento de las colonias, con detención del crecimiento aéreo en todos los casos. Las hifas adquirieron una coloración similar al 61 Rosy Buff y 87 Fawn (22), aspecto mucoso, brillante y consistencia compacta. Al transferir trocitos de estas colonias al mismo medio de cultivo fresco, se recuperaron las características descritas para el micelio joven.

En todos los tratamientos ensayados se observó estabilidad en las características culturales de la variante AM. Las mismas se mantuvieron sin cambios durante transferencias sucesivas realizadas a lo largo de tres años de observaciones.

Patogenicidad

— El análisis de los datos demostró que no hubo diferencias entre la infección ($I =$ valor promedio de la infección según la escala) inducida por el micelio joven ($I = 1.77$) y el envejecido ($I = 1.28$) (DMS 1%:1.25).

— A los seis días de la inoculación se observaron manchas foliares pequeñas (3 mm) en las plantas infectadas con micelio. A los nueve días se visualizaron manchas necróticas en los tratamientos restantes.

No se registraron diferencias significativas entre la agresividad del micelio de la variante AM ($I = 1.49$) y los conidios secundarios ($I = 1.57$). Ambos elementos infectivos fueron menos agresivos que las picnidiosporas ($I = 4.26$) (DMS 1%:0.60).

En las lesiones causadas por los dos tipos de esporas, se observó la formación de picnidios, los cuales, a partir de los reaislamientos, reprodujeron colonias de tipo estromático.

En ninguna de las lesiones originadas por la variante AM se apreció la formación de picnidios, aunque sí se observó micelio sobre la superficie. En todos los casos, los reaislamientos reprodujeron colonias de tipo miceliar.

No se manifestaron diferencias en el aspecto de las lesiones provocadas por las tres clases de inóculo.

Histopatología

El micelio utilizado como inóculo penetró tanto a través de los estomas como directamente por la unión de células epidérmicas (Fig. 4a); del mismo modo lo hicieron las hifas provenientes de la germinación de las picnidiosporas. Esta sería la primera cita acerca de penetración directa por parte de *S. lycopersici*. De las lesiones originadas por la variante AM se observó la emergencia de hifas más o menos gruesas a través de los estomas (Fig. 4b). Esto mismo ocurrió en las lesiones provenientes de inoculaciones con picnidiosporas; habiéndose observado igual proceso en otras especies del género *Septoria* (2).

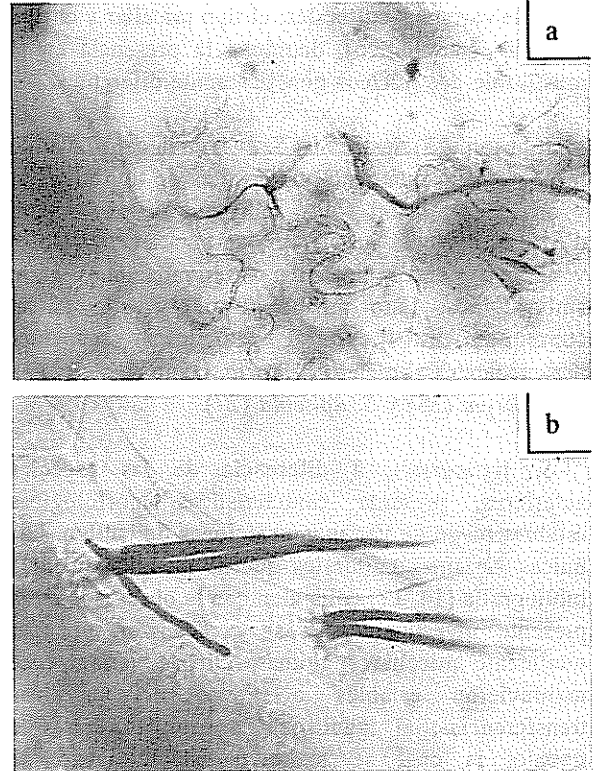


Fig. 4. Histopatología de la variante AM de *S. lycopersici*. a) Penetración directa de hifas a través de la unión de las células epidérmicas (x 270); b) hifas gruesas emergen a través de los estomas del tejido infectado (x 270).

DISCUSION

Se define como saltación a un tipo de mutación que aparece en cultivos artificiales y puede ser mantenida sin cambio luego de sucesivas generaciones de transferencias (28). Otros términos como variación discontinua, mutación, disociación y fenómeno dual, han sido empleados para describir los cambios en las características morfológicas o fisiológicas que se observan a partir de la condición normal (1, 9, 11, 28).

Con respecto a la patogenicidad, se ha señalado que una variante puede ser más virulenta que la cepa parental (14, 16), menos virulenta (4, 5, 8, 17, 26) o no manifestar diferencias con el mismo (21).

Hansen y Smith (11) y Hansen (10) en sus estudios sobre variabilidad de hongos imperfectos, entre los cuales incluyen algunas especies del género *Septoria*, sugieren la presencia en la naturaleza de dos

tipos de variantes culturales: el tipo miceliar y el tipo conidial (estromático), debido a la presencia en el micelio de dos núcleos genéticamente diferentes.

Johnson (13) destaca en *S. avenae* la capacidad de producir frecuentemente variaciones de tipo miceliar y de tipo picnidial sobre medios artificiales; pero dichas variaciones no siempre se mantienen estables y además pueden presentar intergradaciones entre ambos tipos. Esto mismo fue observado en el comportamiento cultural de otras especies pertenecientes al género *Septoria*, como *S. tritici* (7), *S. nodorum* (25) y *S. apiicola* (27).

S. lycopersici, a diferencia de las especies anteriores, presenta características morfológicas estables luego de varias generaciones de cultivo. Las únicas variantes culturales que se mencionan en la bibliografía (14, 17) coinciden con la observada en la presente investigación y se caracterizan por ser totalmente miceliar albinas. Dichas variantes se mantuvieron estables a través de sucesivas transferencias, al igual que la estudiada en este trabajo, la cual se mantuvo estable luego de transferencias mensuales durante tres años y sometida a distintas condiciones de cultivo (luz, temperatura y medios).

El origen de la variante AM no ha sido determinado aún. Una hipótesis podría ser que la variación apareció como resultado de un proceso heterocariótico (10, 11) o como resultado de una mutación (14, 17).

La capacidad patogénica de estas cepas albinas fue nula (17), superior a la de las picnidiosporas (14) o, tal como se observó en los resultados de este ensayo, inferior a la del cultivo parental.

En cuanto a la infectividad de los conidios secundarios, la bibliografía no ofrece ningún trabajo al respecto, excepto lo sugerido por Kurozawa y Balmer (15). El presente trabajo confirma que dichas esporas son infectivas, pero menos agresivas que las picnidiosporas.

En la naturaleza, es probable que se produzcan tanto cepas miceliar como conidios libres y que ambos actúen como modo alternativo de dispersión del patógeno en condiciones ambientales favorables. En la variante AM dicha dispersión se llevaría a cabo por medio de las hifas gruesas que emergen a través

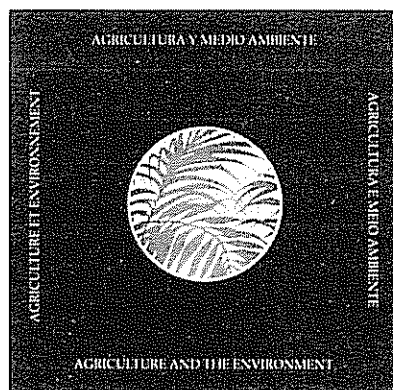
de los estomas y que podrían ser desprendidas y transportadas y difundidas por el agua o el viento. Ya que las formas picnidiales también emiten esas mismas hifas, se considera que éstas actuarían como un mecanismo alternativo de dispersión.

LITERATURA CITADA

1. AINSWORTH, G.C. 1971. Dictionary of the fungi. 6. ed. Kew, Surrey, Commonwealth Mycological Institute. 663 p.
2. ALIPPI, H.E. 1986. Observaciones sobre la histopatología de la viruela del apio. Revista Argentina de Micología 9(3):23-25.
3. ANDRUS, C.F. 1941. Preparation of inoculum with a mechanical liquifier. Phytopathology 31:566-567.
4. BONDE, R. 1929. Physiological strains of *Alternaria solani*. Phytopathology 19:533-548.
5. BURKHOLDER, W.H. 1925. Variations in a member of the genus *Fusarium* grown in culture for a period of five years. American Journal of Botany 12:245-253.
6. COOKE, B.M.; JONES, G.D. 1970. A field inoculation method for *Septoria tritici* and *Septoria nodorum*. Plant Pathology 19:72-74.
7. CORDO, C.A.; LINDQUIST, J.C. 1987. Análisis cualitativo de la variabilidad cultural de *Septoria tritici*. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica 25(1-2):59-77.
8. CORMACK, M.W. 1951. Variation in the cultural characteristics and pathogenicity of *Fusarium avenaceum* and *F. arthrosporioides*. Canadian Journal of Botany 29:32-45.
9. FOSTER, J.W. 1949. Natural variation. In Chemical activities of fungi. New York, Academic Press. p. 184-208.
10. HANSEN, H.N. 1938. The dual phenomenon in imperfect fungi. Mycologia 30:442-455.
11. HANSEN, H.N.; SMITH, R.E. 1932. The mechanism of variation in imperfect fungi: *Botrytis cinerea*. Phytopathology 22:953-964.
12. HENIS, Y.; CHET, ? 1968. Developmental biology of sclerotia of *Sclerotium rolsfii*. Canadian Journal of Botany 46:947-948.

13. JOHNSON, T. 1952. Cultural variability in *Septoria avenae* Frank. Canadian Journal of Botany 30:318-330.
14. KUROSZAWA, C.; BALMER, E. 1975. Variabilidade de *Septoria lycopersici* Speg., agente causal da mancha foliar do tomateiro. Arquivos do Instituto Biológico 42:17-22.
15. KUROSZAWA, C.; BALMER, E. 1977. Efeito de fatores nutricionais, iluminação e de cepas na formação de "conídios secundários" de *Septoria lycopersici* Speg. Summa Phytopathologica 3:59-65.
16. LE CLERG, E.L. 1939. Studies on a cultural variant of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 29:267-274.
17. MAC NEILL, B.H. 1950. Studies in *Septoria lycopersici* Speg. Canadian Journal of Research 28:645-672.
18. MANANDHAR, J.B.; HARTMAN, G.L.; SINCLAIR, J.B. 1986. *Colletotrichum destructivum*, the anamorph of *Glomerella glycines*. Phytopathology 76:282-285.
19. MESSIAEN, C.M.; CASSINI, R. 1968. Recherches sur les fusarioses. IV. La Systématique des *Fusarium*. Annales des Epiphyties 19:387-459.
20. MILLER, P.M. 1955. V₈ juice as a general purpose medium for fungi and bacteria. Phytopathology 45:461.
21. NEWTON, M.; JOHNSON, T. 1927. Color mutations in *Puccinia graminis tritici* (Pers.) Erikss. and Henn. Phytopathology 17:711-725.
22. OSWALD, J.W. 1949. Cultural variation, taxonomy and pathogenicity of *Fusarium* species associated with cereal root rots. Phytopathology 39:359-376.
23. RAYNER, R.W. 1970. A mycological colour chart. Kew, Surrey, Commonwealth Mycological Institute/ British Mycological Society. 31 p.
24. RICKER, A.J.; RICKER, R.S. 1936. Introduction to research on plant diseases. New York, John S. Swift. 26 p.
25. SCHAREN, A.L.; KRUPINSKY, J.M. 1970. Cultural and inoculation studies of *Septoria nodorum*: Cause of glume blotch of wheat. Phytopathology 60:1480-1485.
26. WENDLING, R. 1939. Variability of *Fusarium vasinfectum* in culture. Phytopathology 29:755.
27. WOLCAN, S. 1985. Efectos de determinados factores del medio sobre el comportamiento de algunos patógenos de hortalizas: Informe científico. Buenos Aires, Arg., Comisión de Investigaciones Científicas. p. 6.
28. WOLF, F.T.; WOLF, F.A. 1947. Physiologic specialization and variation among fungi. In The Fungi: An Advanced Treatise. G.C. Ainsworth, A.S. Sussman (Eds.). New York. v. 2, p. 257-258.

LIBRO RECOMENDADO



US\$20.00

Agricultura y Medio Ambiente. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Cuatrilingüe en español, inglés, francés y portugués. 76 p. ISBN 92-9039-193-6.

El testimonio gráfico de fotografías de diversos lugares del continente americano plasma el dramático dilema de cómo el desbordante crecimiento tecnológico está llevando a la humanidad al borde de la destrucción de su ambiente natural. La gran calidad artística de esta publicación fue posible, también, gracias al generoso apoyo de la Agencia Canadiense para el Desarrollo Internacional (ACDI).

Ver lista de publicaciones disponibles para la venta y boleta de solicitud en la última sección de la revista Turrialba.

Effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid and Activated Charcoal on Somatic Embryogenesis of *Bactris gasipaes* H.B.K.¹

M. Stein*, C. Stephens*

ABSTRACT

Somatic embryogenesis of the pejobaye or peach palm (*Bactris gasipaes* H.B.K.) was induced by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) *in vitro* in a modified Murashige and Skoog (MS) medium. Callus cultures derived from shoot tips of greenhouse-grown seedlings produced the most somatic embryos in medium with 100 mg/l 2,4-D, 2.5 g/l activated charcoal, and 10% (v/v) coconut water. Maturation and germination of somatic embryos occurred when embryogenic calli were transferred to a modified MS medium without 2,4-D. The most prolific seedling explant produced 93 plantlets, mostly from easily separable somatic embryos after three months of callus induction under 24 h of darkness and four additional months of embryo maturation and germination in a 16 h-lighted growth chamber.

COMPENDIO

El ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) indujo embriogénesis somática en pejobaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.) *in vitro*, sobre un medio Murashige y Skoog (MS) modificado. Los cultivos de callo fueron derivados de ápices caulinares de plantas germinadas en invernadero. La mayoría de los embriones somáticos se generaron sobre un medio con 100 mg/l de 2,4-D, 2.5 g/l de carbón activado y 100 ml/l de agua de coco. La maduración y germinación de los embriones somáticos se dieron cuando los cultivos fueron transferidos a un medio MS modificado sin fitohormonas, carbón activado o agua de coco. Del cultivo más productivo se obtuvieron 93 plántulas, la mayoría de ellas provenientes de embriones somáticos fácilmente separables, generados tras un período de inducción de callo de tres meses a la oscuridad, seguido de un período de maduración y germinación de cuatro meses adicionales, a 16 h diarias de luz artificial en una cámara de crecimiento.

INTRODUCTION

The pejobaye or peach palm (*Bactris gasipaes* H.B.K.) is an important crop in limited areas of Central and South America and is used especially for fruit and heart of palm production (8). Pejobaye has many uses, both human and animal, but is a crop for which the full potential has yet to be realized (5). One way of increasing its use is to grow superior genotypes with uniformly high yields. At present, yields are very variable because the palm has a strong mechanism of self-incompatibility, and plants are grown primarily from heterozygous seedlings (6).

Clonal propagation of superior genotypes by rooting basal offshoots has yielded discouraging results (1, 7), whereas *in vitro* clonal propagation is a promising alternative that has recently been demonstrated experimentally (2, 3, 10, 11, 14, 15).

Previous research indicated that the best embryogenic responses in pejobaye callus cultures could only be obtained with picloram (4-amino, 3,5,6-trichloropicolinic acid), a stronger auxin than the commonly used 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) (14). Previous experiments with 2,4-D have yielded only mixed results, although sporadic cultures with very low embryogenic regeneration rates have been observed (3, 10, 11). Because of the widespread effectiveness of 2,4-D for inducing somatic embryogenesis in crop plants, including palms (13), the ease with which it can be obtained for laboratory use, and prospects that somatic embryogenesis could

¹ Received for publication 30 January 1989.

The authors thank Dr. Jorge Mora-Urpi, University of Costa Rica, for supplying plant materials, and the World Food Institute, Iowa State University, for a stipend extended to K.M. Stein.

* Department of Horticulture, Iowa State University, Ames, Ia 50001, U.S.A.

generate large numbers of propagules, the researchers wanted to persist in testing the effectiveness of 2,4-D at high concentrations, a condition that apparently needs to be met in this species, to maximize possibilities of obtaining somatic embryogenesis (2, 10, 11). The effectiveness of activated charcoal (AC) and coconut water (CW) in the callus-induction medium was also tested, as previous research indicated beneficial effects of AC in preventing browning of tissue cultures (16), and CW has been reported to enhance culture growth (4). Both additives have previously been used in peji-baye tissue culture research (10, 11, 14, 15).

MATERIALS AND METHODS

Seedlings were imported from Costa Rica when they had just emerged from the seeds, and were grown in individual pots in a greenhouse at 27°C. No artificial light was used. The seedlings were watered every other day and fertilized every other week with a soluble greenhouse fertilizer containing 200 ppm N.

Explants were obtained by cutting off the roots, foliage, and part of the stem of the palm seedlings until 9 cm stem segments were left, which included the broad base of the seedling. These segments were rinsed several times to remove the soil. The outermost tissue layer, i.e. the base of a leaf sheath, of each stem segment was peeled off, and the stem segments were subsequently surface-sterilized by immersing them in 70% ethyl alcohol for 1 minute. This step was followed by a transfer of the stem segments into a 30% (V/V) chlorine bleach solution (1.5% NaOCl), which also contained two drops of the surfactant "Tween 80". Immersed explants were shaken continuously for 15 min, after which they were rinsed four times in sterile deionized water under aseptic conditions. All further dissection steps were carried out aseptically. Two more tissue layers or leaf sheath bases were then removed from the segments, which left stem sections formed by the inner two or three layers of leaf-sheath tissue enclosing the leaf primordia, with the broad stem base still attached at the proximal end, where the roots had been attached.

To obtain the shoot tips, stem segments were held by hand at their distal end, where the foliage was originally attached, and thin slices were cut from the broad stem base. Contamination was avoided by holding the distal end outside the Petri dish while

resting the proximal end inside the Petri dish in which the dissection was carried out. After a few slices had been removed from the broad stem base, several concentric "rings" became visible in the stem tissue. This indicated that the cuts had reached an area very close to the shoot tip. At this point a circle was cut into the stem tissue following the contour of the innermost "ring" visible in the center of the cut stem surface. By squeezing the base of the stem section gently between two fingers, the shoot tip, with a thin layer (1 - 2 mm) of stem tissue still attached at its base, was ejected from the stem section without suffering any visible damage. The shoot tips, which were 2 - 3 mm long, were placed vertically on semi-solid medium, analogous to their natural orientation in the seedlings. With this method of dissection, 90% of initiated cultures remained uncontaminated by bacterial or fungal growth during the experiment.

The basal culture medium was composed of MS salts (7), to which were added (in mg/l): myo-inositol (100), thiamine-HCl (0.1), pyridoxine-HCl (0.5), nicotinic acid (0.5), benzyladenine (5), and sucrose (30 g/l). To this basal medium was added 0, 25, 50, 75, or 100 mg/l 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and either 0 or 2.5 g/l activated charcoal (AC), and 0 or 10% (v/v) coconut water (CW). There were 18 treatments (medium combinations poured into individual Petri dishes), with nine replications (shoot tips) per treatment and one shoot tip per Petri dish. Of the nine shoot tips per treatment, 1/3 came from 4-month-old seedlings, and 2/3 from 18-month-old seedlings. The pH of each of the 18 media was adjusted to 5.8, and 2 g/l Gelrite was added, after which the media were autoclaved 15 min at 1.1 kg/cm² and 121°C. Subsequently, 15-ml aliquots of each medium were dispensed aseptically into sterile, disposable 6 cm Petri dishes.

The cultures were placed in a dark growth chamber at 24°C - 27°C. Explants were kept on this callus-induction medium with each respective 2,4-D, AC, and CW concentration for three months, after which all explants, whether callused or not, were transferred to a regeneration medium, consisting of the basal MS medium without the addition of phytohormones, AC, or CW. All cultures were incubated on this medium in a growth chamber at 24°C - 27°C under a 16 h photoperiod at 45 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ for nine months, after which final data were taken. All media were pH-adjusted, solidified, and autoclaved as described above. Cultures were

transferred to fresh media every six weeks throughout the experiment.

RESULTS AND DISCUSSION

Multiple plantlets were produced at a 2,4-D concentration of not less than 75 mg/l, despite the fact that in the induction phase of the experiment, good callusing had been observed at 2,4-D levels as low as 25 mg/l without AC in the medium. The effective concentration of 2,4-D may have been much less than 75 mg/l or 100 mg/l in the cultures that produced multiple shoots and plantlets, because of the presence of AC. Weatherhead *et al.* (17) found that AC can adsorb auxins from the culture medium, thus lowering their effectiveness for callus initiation, and in some cases even making them completely unavailable. This might explain why cultures with 25 mg/l and 50 mg/l 2,4-D and 2.5 g/l AC in the medium produced no calli at all, whereas the same 2,4-D concentrations

without AC did produce calli. At 75 mg/l 2,4-D, none of the cultures produced calli, whether AC had been added to the medium or not. Only the medium with AC and CW produced multiple plantlets.

On the medium with AC but without CW only three shoot tips developed into single-shoot plantlets. All others failed to respond. Multiple shoots and plantlets were produced in medium with 100 mg/l 2,4-D plus AC, whereas without AC, no callus was formed and no plantlets were regenerated (Table 1). The explants on 75 mg/l and 100 mg/l 2,4-D without AC discolored and died, suggesting that 2,4-D was toxic at those concentrations and AC was perhaps necessary to effectively lower such high 2,4-D concentrations. Another possibility is that 2,4-D interacts negatively with substances secreted into the medium by the explant, and the addition of AC prevents this. Minor browning or oxidation of the callus tissue was observed in some of the cultures after transferring them to light, but we did not

Table 1. Effect of 2,4-D, activated charcoal, and coconut water in the callus-inducing medium on subsequent plantlet production (on medium without 2,4-D, charcoal or coconut water). All media treatments in the callus-induction phase contained 5 mg/l BA. There were nine replications per treatment.

2,4-D concentration mg/l	Activated charcoal 2.5 g/l	Coconut water 10% (v/v)	Callus produced	Number of cultures that regenerated shoots and plantlets	Number of cultures with more than 10 shoots and plantlets	Total number of shoots/plantlets regenerated
0	no	yes	no	0	0	0
	no	no	no	0	0	0
25	yes	yes	no	0	0	0
	yes	no	no	0	0	0
	no	yes	yes	0	0	0
	no	no	yes	0	0	0
50	yes	yes	no	0	0	0
	yes	no	no	0	0	0
	no	yes	yes	0	0	0
	no	no	yes	0	0	0
75	yes	yes	no	2	0	6
	yes	no	no	3	0	3
	no	yes	no	0	0	0
	no	no	no	0	0	0
100	yes	yes	yes	5	2	123*
	yes	no	yes	5	2	57**
	no	yes	no	0	0	0
	no	no	no	0	0	0

* One genotype alone (seedling 266Y, see Table 2) accounted for 76% of all plantlets produced

** Seedling 192Y (see Table 2) accounted for 54% of all plantlets produced.

consider the browning to be as severe as have previous researchers (2, 12, 14). AC had no discernable effect on prevention of browning of explants in our study.

An equal number of 4-month-old and 18-month-old explants produced multiple (two or more) shoots and plantlets, but of the four cultures from which more than 10 plantlets were regenerated, three were derived from shoot tips of four-month-old seedlings. The most productive culture, which produced 93 plantlets, was not only derived from a four-month-old seedling, but was also grown on a medium containing CW (Table 2). Although too few cultures produced multiple shoots or plantlets to carry out an analysis of

Table 2. Itemization of individual shoots or plantlets produced by genotypes (explants) which showed regeneration *in vitro* after at least seven months in culture: three months in the dark on a given induction medium, and at least four months under 16 h light on a basal maturation/germination medium devoid of growth hormones, activated charcoal (AC), and coconut water (CW).

Medium*	Genotype**	Age (in months)	Number of shoots/plantlets produced
A	177SP	18	1
	179SP	18	1
	224SM	18	1
B	273Y	4	4
	275Y	4	2
C	192Y	4	31
	193Y	4	19
	194Y	4	2
	225SM	18	2
	226SM	18	3
D	247SP	18	4
	248SP	18	18
	266Y	4	93
	288SM	18	3
	290SM	18	5

* The media specified here are the induction media on which the explants were originally grown. All were modified MS media with 5 mg/l BA.

Medium A contained 75 mg/l 2,4-D, 2.5 g/l AC

Medium B contained 75 mg/l 2,4-D, 2.5 g/l AC and 10% (v/v) CW

Medium C contained 100 mg/l 2,4-D, 2.5 g/l AC

Medium D contained 100 mg/l 2,4-D, 2.5 g/l AC and 10% (v/v) CW

** The genotype number is an arbitrary number assigned by the researchers to each explant for record-keeping purposes. Explants were usually numbered in the order in which they were dissected and plated onto the medium. Each genotype number was a single shoot tip extracted from a single seedling

variance, it appears that young age and the addition of CW to the medium have a positive effect on embryogenesis. In a related experiment it was found that there is a statistically significant positive effect of young age on the production of callus in pejobaye, and that CW enhances callusing in young tissue (12).

The study suggests that a callus induction period of only three months in the dark suffices to induce embryogenesis. Valverde *et al.* (14) incubated pejobaye cultures for a total of six months in the dark and did not obtain higher embryogenesis rates. In fact, the variation in numbers of plantlets from different genotypes produced, under the conditions of this experiment, and by Valverde *et al.* (14), suggests that genotype is an important variable in number of plantlets regenerated. This should not be surprising, given the reproductive biology and resultant heterozygous nature of this crop (8).

Regeneration of pejobaye *in vitro* via somatic embryogenesis was induced by 2,4-D in at least four genotypes out of the 18 cultured on 100 mg/l 2,4-D and 2.5 g/l AC. After seven months of growth *in vitro* from the time of initiation, most regenerants had grown into individual plantlets, which could be separated easily from one another (Fig. 1). These somatic embryos had a continuous vascular system extending from shoot to root apex (Fig. 2), demonstrating a common feature of somatic embryos. Some of the regenerants grew together in clumps (Fig. 3). Many of these resulted from embryogenic structures, but some may have developed through organogenesis. The development of multiple shoots and plantlets through direct organogenesis is a phenomenon which has been previously documented

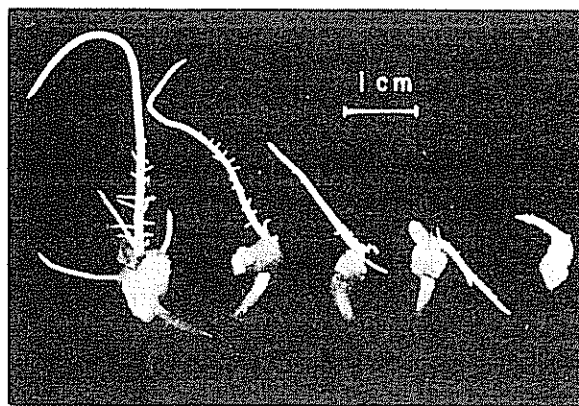


Fig. 1. Somatic embryos produced from callus culture of genotype 266Y four months after removal of 2,4-D from the culture medium.

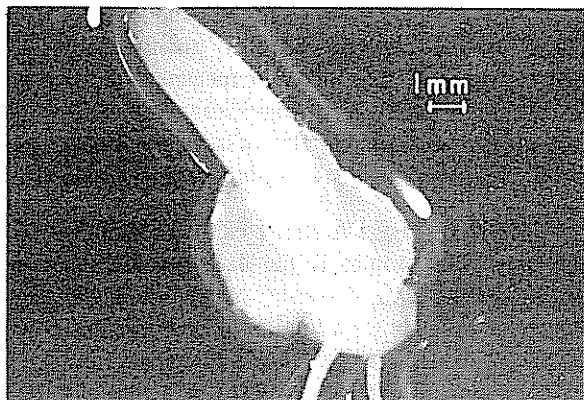


Fig. 2. Longitudinal section through one of the somatic embryos shown in Fig. 1, arising from a callus culture of genotype 266Y, showing a continuous vascular system from shoot apex (upper left) to root apex (lower right), with no attached callus.

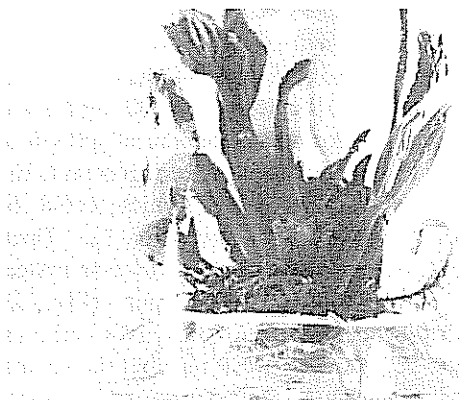


Fig. 3. Pejibaye plantlets four months after removal from callus inducing medium.

in pejibaye tissue cultures (2, 10, 11, 14). Pinedo Panduro (10) proposed that multiple shoots may arise through organogenesis from pre-existing axillary buds, or from a *de novo* formation of such buds.

In our study, easily removable somatic embryos were found growing among such plantlet clumps in three cultures. This indicates two possibilities: either the development of somatic embryos in our cultures was asynchronous and embryos continued to develop among older somatic embryos, or somatic embryogenesis and direct organogenesis occurred simultaneously in a given culture. No embryogenic structures were observed in any of the cultures which produced fewer than 10 regenerants, so it is therefore assumed that they went through a strictly organogenic regeneration process.

CONCLUSION

The use of 2,4-D to stimulate embryogenic callus, followed by the maturation and germination of somatic embryos has the potential for use as a clonal propagation method. The main obstacle still remaining is the random rate at which embryogenesis occurs. Somaclonal variation cannot be ignored where a callus phase is involved, but the natural seedling variation is so great that, comparatively, somaclonal variation may not be important. It has been shown here that somatic embryogenesis may be induced by 2,4-D in callus from seedling explants. Recently, Salazar (11) showed that 2,4-D may also induce somatic embryogenesis on explants derived from offshoots of mature pejibaye palms, indicating that, in the future, superior genotypes may be clonally propagated in large numbers from mature plants despite the apparent advantage of seedling tissue to produce regenerants. If tissue culture techniques are improved so that shoot tips from older plants propagate as well *in vitro* as those from very young plants, adult pejibaye palms with good agronomic traits and a genetic propensity for somatic embryogenesis could be reproduced in very large numbers. This would be facilitated through a combination of two factors: the ability of some plants to form somatic embryos and the pejibaye palm's natural production of numerous basal offshoots in the field. The latter are essentially clones and can yield many shoot tips without sacrificing the mother plant.

LITERATURE CITED

1. ARIAS, O. 1979. Efecto del flurenol en la producción de hijos laterales de pejibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.). *Agronomía Costarricense* 3:47-52.
2. ARIAS, O.M.; HUEITE, F.V. 1983. Propagación vegetativa *in vitro* de pejibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.). *Turrialba* 33(2):103-108.
3. CHAVERRI JIMENEZ, Y. 1984. Efecto de diferentes fuentes y niveles de nitrógeno en el medio nutritivo para el cultivo *in vitro* de ápices de pejibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.). Tesis M.S. San José, C.R., Universidad de Costa Rica. 63 p.

4. ERDELSKY, K.; CHOLVADTOVA, Z. 1970. Wirkung von Kokosmilch und Hefeextrakt auf das Wachstum von Gwebekulturen der Tabakpflanze *Nicotiana tabacum* L. Acta Fac. Rerum. Nat. Comenianae Physiologia Plantarum. 1:99-116.
5. HUNTER, R.J. 1969. The lack of acceptance of the pejibaye palm and a relative comparison of its productivity to that of maize. Economic Botany 23:237-244.
6. MORA-URPI, J. 1983. El pejibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.): Origen, biología flora y manejo agronómico. In Reunión de Consulta "Palmeras poco Utilizadas de América Tropical" (1983, Turrialba, C.R.). San José, C.R., FAO/CATIE. v.43, p.118-160.
7. MORA-URPI, J.; SOLIS, E. 1980. Polinización en *Bactris gasipaes* H.B.K. (Palmae). Revista de Biología Tropical 28:153-174.
8. MORA-URPI, J.; VARGAS, E.; LOPEZ, C.A.; VILLAPLANA, M.; ALLON, G.; BLANCO, C. 1984. The pejibaye palm (*Bactris gasipaes* H.B.K.). San José, C.R., FAO. 16 p.
9. MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15:473-497.
10. PINEDO PANDURO, M.H. 1987. Organogénesis directa en apices caulinares de pejibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.). Tesis M.S. Turrialba, C.R., Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. 110 p.
11. SALAZAR, S.S. 1986. The effect of 2,4-D, light and activated charcoal on offshoot-tip culture of the pejibaye palm (*Bactris gasipaes* H.B.K.). M.S. Thesis. Birmingham, England, University of Birmingham. 70 p.
12. STEIN, K.M. 1988. *In vitro* cultures of the pejibaye palm (*Bactris gasipaes* H.B.K.). M.S. Thesis. Iowa State University, Ames, Iowa, USA. 187 p.
13. TISSERAT, B. 1984. Clonal propagation: Palms. In Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants K. Indra Vasil. (Ed.). New York, Academic Press. v. 1, p.743-781.
14. VALVERDE, R.; ARIAS, O.; THORPE, T.A. 1987. Picloram-induced somatic embryogenesis in pejibaye palm (*Bactris gasipaes* H.B.K.). Plant Cell Tiss. Organ Cult. 10:149-156.
15. VALVERDE, R.; GOMEZ, L.; ARIAS, O.; THORPE, T. 1987. Respuesta morfofogenética de los ápices de pejibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.) cultivado *in vitro* en condiciones de luz y oscuridad. Agronomía Costarricense 11(1):97-102.
16. WANG, P.J.; HUANG, L.C. 1976. Beneficial effects of activated charcoal on plant tissue and organ cultures. *In Vitro* 12:260-262.
17. WEATHERHEAD, M.A.; BURDON, J.; HENSHAW, G.G. 1978. Some effects of activated charcoal as an additive to plant tissue culture media. A. Pflanzenphysiol. 89:141-147.

Selección Familiar de Progenies de Hermanos Completos en Poblaciones de Maíz para el Trópico Mexicano¹

M. Sierra, R.E. Preciado*, J.J. Alcázar*, F.A. Rodríguez**

ABSTRACT

During the rainy seasons of 1984 and 1986 Sintético Tropical Dentado, Tuxpeño Tropical Cristalino, and Población Elite Tropical varieties of maize were evaluated in Mexico's humid tropics for their response to full-sib recurrent selection (SRHC) and adaptability. It was detected that the varieties of the second cycle yielded 6% more than the first; and with regard the analysis of stability parameters, stable varieties with higher yield ("desirables") were detected. Finally, varieties of "Sintético Tropical Dentado" showed better yields in humid conditions, while the varieties of "Tuxpeño Tropical Cristalino" and "Población Elite Tropical" proved better in dry conditions.

COMPENDIO

Durante los ciclos de temporal de 1984 y 1986 se evaluaron en 9 y 14 localidades del trópico mexicano, respectivamente, variedades de maíz: Sintético Tropical Dentado, Tuxpeño Tropical Cristalino y Población Elite Tropical con los objetivos de estimar la respuesta a la Selección Recurrente de Hermanos Completos (SRHC) en esas poblaciones de maíz y conocer su adaptabilidad. En la evaluación de 1984 se incluyeron variedades del primer ciclo de SRHC y se separaron los ambientes por tipo de clima; en la evaluación de 1986 se incluyeron variedades del primer y segundo ciclos de selección. De acuerdo con los análisis de estabilidad para las evaluaciones de 1984 y 1986, se detectaron variedades estables y de alto rendimiento ("deseables"). Finalmente, se observó que las variedades de la población "Sintético Tropical Dentado" tuvo mejor comportamiento en climas húmedos, mientras que "Tuxpeño Tropical Cristalino" y "Población Elite Tropical" tuvieron mejor comportamiento en climas más secos.

INTRODUCCION

En la región tropical húmeda y subhúmeda de México se cultivan alrededor de 2.5 millones de hectáreas de maíz, en donde sólo en un 15% al 20% de la superficie se utiliza semilla mejorada, debido principalmente a su escasa disponibilidad en el mercado. Lo anterior plantea la necesidad de formar variedades de polinización libre a través del mejoramiento poblacional, cuyas ventajas son la facilidad

de producción de semilla y que el productor puede utilizarla por varios años.

El mejoramiento poblacional en el cultivo de maíz es importante porque aprovecha la porción aditiva de la variancia genética presente en las poblaciones y porque además genera subproductos que son variedades de polinización libre de alto rendimiento y amplia adaptación (7). En la hibridación, el mejoramiento poblacional también es importante porque se está en posibilidades de obtener líneas superiores que, a su vez, formen mejores combinaciones híbridas.

En los últimos años, una serie de trabajos ha revelado que, mediante la selección recurrente continua, es posible incrementar constantemente el potencial de rendimiento de variedades de polini-

¹ Recibido para publicación el 20 de junio de 1988.

* Ing. Agr. Investigadores del Programa de Maíz del Campo Experimental de Cotaxtla (CECOT); Centro de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (CIFAP), Veracruz/Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP) - Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH), Veracruz, México.

zación libre de maíz, llegando en algunos casos a superar a los híbridos utilizados en un área (9).

Al mejorar las poblaciones de maíz, estas adquieren amplia adaptación y relativamente alta tolerancia a factores adversos como insectos, enfermedades, sequía, otros, que se presentan en algunas regiones (7).

Las frecuencias alélicas pueden ser modificadas por selección y, si un gran número de genes está involucrado, los incrementos por generaciones son pequeños, para lo cual un mayor número de cambios puede ser logrado por selección recurrente continua a través de muchos años (2).

Entre los métodos de mejoramiento poblacional, la selección recurrente de Hermanos Completos es un medio eficiente para mejorar las poblaciones de maíz, debido a que el coeficiente de la variancia genética aditiva entre familias es relativamente grande (1). Con la utilización de este método se han obtenido ganancias hasta del 3% en promedio por ciclo (6, 8).

Los objetivos del presente trabajo fueron:

- Estimar la respuesta a la selección recurrente de Hermanos Completos en las poblaciones de "Sintético Tropical Dentado" (STD), "Tuxpeño Tropical Cristalino" (TTC) y "Elite Tropical" (PET).
- Definir la adaptabilidad de las variedades experimentales obtenidas por selección recurrente de Hermanos Completos.

MATERIALES Y METODOS

La selección recurrente en las poblaciones de maíz STD, TTC y PET fue realizada por el programa de maíz para el trópico húmedo de México, con sede en el Campo Experimental Cotaxtla (CECOT) del Centro de Investigaciones Forestales y Agropecuarias de Veracruz (CIFAP-VER.), perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP), México.

Características de las poblaciones

La población STD está constituida por la raza Tuxpeño y se caracteriza por tener grano blanco dentado, planta de altura intermedia, ciclo biológico intermedio con alto potencial de rendimiento y adaptable a áreas tropicales bajas.

La población TTC es de grano blanco cristalino y semicristalino, de planta baja, ciclo intermedio, constituida por germoplasma "Tuxpeño" y "Cristalino Cubano", con alto potencial de rendimiento y buen comportamiento en zonas tropicales.

La PET se integró con dos compuestos germoplásticos de amplia base genética a partir de colecciones de criollos tropicales sobresalientes en ensayos nacionales. Es una planta alta, de ciclo biológico tardío y presenta cierta variación fenotípica como en la mazorca.

Procedimiento

En el Cuadro 1 se presenta el esquema de selección recurrente donde se hace referencia a las actividades desarrolladas en función del tiempo, donde se pueden observar la continuidad del mejoramiento poblacional, la obtención de variedades de polinización libre y el logro de líneas que se pueden utilizar en programas de hibridación (5 y 6). A continuación se describen las fases presentadas:

Formación de familias de Hermanos Completos (HC). Para el primer y segundo ciclos de selección se realizó un mínimo de 400 progenies de HC en cada una de las tres poblaciones, para lo cual se etiquetaron individualmente las plantas por familias y se efectuaron cruza entre pares de plantas, constituyendo cada par una familia de HC. En la cosecha fueron seleccionadas 250 familias por población (6).

Evaluación de familias. La evaluación de familias se hizo durante los ciclos agrícolas de primavera-verano (temporal) de 1982 y 1984 para el primer y segundo ciclo de selección respectivamente, en cinco localidades comprendidas en el área tropical de la zona sur del país y una en Ciudad Obregón, Sonora, en la zona norte (Cuadro 2). La selección de familias se hizo con base en el rendimiento, altura de planta y mazorca, sanidad en plantas y mazorca, acame; y se tuvo especial cuidado en las características agronómicas que a continuación se detallan para cada una de las poblaciones:

STD Grano dentado y buena cobertura de mazorca.

TTC Buena cobertura de mazorca.

PET Menor altura de planta y mazorca.

Cuadro 1. Esquema de trabajo en la obtención de variedades experimentales por selección recurrente de hermanos completos en las poblaciones sintético-tropical-dentado, tuxpeño-tropical-cristalino y población élite tropical.

Año y ciclo	Actividad	Localidad
1982 A	Formación de Hermanos Completos 1er CSR	Cotaxtla
1982 B	--Evaluación de Hermanos Completos	Zona Sur
	--Formación de líneas S ₁	Cotaxtla
1983 A	Formación de variedades experimentales F ₁	Cotaxtla
	--Primer ciclo de recombinación de líneas S ₁	Cotaxtla
	--Avance endogámico a S ₂	Hibridación
1983 B	--Obtención de variedades F ₂	Cotaxtla
	--Segunda recombinación	
1984 A	--Formación de H C. 2º CSR	Cotaxtla
1984 B	--Evaluación de H C. 2º CSR	Zona Sur
1985 A	--Formación de variedades experimentales 2º CSR	Cotaxtla e Iguala
1985 B	--Avance generacional de variedades a F ₂	Cotaxtla e Iguala
1986 B	--Evaluación de variedades (F ₂) del 2º CSR	Zona Sur

Notas:

- HC = Progenies de Hermanos Completos
 CSR = Ciclo de selección recurrente.
 A = Ciclo agrícola otoño-invierno (riego).
 B = Ciclo agrícola primavera-verano (temporal)
 Zona Sur = Comprende geográficamente los estados del Sureste de la República Mexicana
 Cotaxtla = Campo Experimental Cotaxtla en el estado de Veracruz, México
 Iguala = Campo Experimental Iguala en el estado de Guerrero, México

Recombinación de familias para avance cíclico.

De las 50 a 70 familias seleccionadas por población (20% a 30% de presión de selección), fueron derivadas líneas S₁, con las cuales se establecieron lotes de desespigamiento con fines de recombinación, donde el macho fue constituido por un compuesto mecánico balanceado de las familias seleccionadas, y la hembra por cada una de las líneas sembradas individualmente. Para un segundo ciclo de recombinación se hizo igual, sólo que en lugar de utilizar líneas S₁ se usaron familias de medios hermanos.

Formación de variedades experimentales. Las variedades experimentales se formaron mediante la recombinación genética de las 10 familias seleccionadas en cada localidad por población y a través

de localidades; la nomenclatura para cada variedad experimental fue: iniciales de la localidad en que se evaluaron las progenies, ejemplo: Iguala (IG); iniciales de la denominación de la población, ejemplo: "Sintético Tropical Dentado" (STD); y el año en que se evaluaron las progenies (82), que conducen a la nomenclatura de la variedad IG STD 82.

Evaluación de las variedades experimentales.

Las variedades experimentales del primer y segundo ciclo de selección recurrente fueron evaluadas durante los ciclos de temporal de 1984 y 1986, respectivamente. Las localidades de evaluación se muestran en el Cuadro 3, donde se registra el tipo de clima, altura sobre el nivel del mar, temperatura y precipitación anual y las coordenadas geográficas respectivas.

Cuadro 2. Localidades de evaluación de progenies de Hermanos Completos de las poblaciones de maíz STD, TTC y PET en los ciclos agrícolas primavera-verano (temporal) 1982 y 1984.

Localidad	Población de maíz		
	STD	TTC	PET
Cotaxtla, Veracruz	1, 2	1, 2	1, 2
San Andrés Tuxtla, Veracruz	1, 2	1, 2	1, 2
Ocozocuaatla, Chis	1, 2	1, 2	2
Villa Flores, Chis	1	-	1
Iguala, Gro	1, 2	2	1, 2
Campeche, Camp	-	1	-
Santiago Ixcuintla, Nay.	-	-	1
Cd. Obregón, Son	1, 2	1, 2	2
Costa de Jalisco	2	2	2

1 Evaluación de progenies de Hermanos Completos Primavera-Verano (temporal) 1982 (1er. ciclo)

2 Evaluación de progenies de Hermanos Completos Primavera-Verano (temporal) 1984 (2do. ciclo)

Germoplasma utilizado. Se incluyeron en la evaluación las variedades del primer y segundo ciclo de selección recurrente, las variedades sintéticas denominadas CGB[†] y los genótipos-testigo.

Análisis estadísticos. Se hicieron análisis de variancia para la variable rendimiento de grano en las evaluaciones del primer ciclo de selección (temporal de 1984) y del segundo ciclo (temporal de 1986); y se caracterizaron los genótipos en función de su respuesta al ambiente mediante la metodología de parámetros de estabilidad, propuesto por Eberhart y Russell (3).

En la evaluación del temporal de 1986, se hicieron las pruebas de "t" para la variable rendimiento de grano en las comparaciones siguientes: Variedades del primer ciclo *versus* variedades del segundo ciclo, variedades del segundo ciclo F₁ *versus* variedades del segundo ciclo F₂, variedades del segundo ciclo *versus* variedades sintéticas (CGB[†]) y variedades del segundo ciclo *versus* testigos.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro 4 se presenta el rendimiento medio y los parámetros de estabilidad de las variedades experimentales del primer ciclo de selección durante el temporal de 1984 en 14 localidades comprendidas en el área tropical de la zona sur de México. Se puede observar que de los 32 genótipos evaluados, 20

resultaron ser estables; de éstos fueron superiores al 0.05 de probabilidad (genótipos "deseables") las variedades: OCOZ STD-82, IG STD-82 y VF STD-82 de la población "Sintético Tropical Dentado"; TH TTC-82, COT TTC-82, OCOZ TTC-82, SAT TTC-82 y CAMP TTC-82 de la población "Tuxpeño Tropical Cristalino" y las variedades sintéticas CGB-23 y CGB-21. También se observa que nueve genótipos se caracterizaron por tener buena respuesta en todos los ambientes pero son inconsistentes.

Finalmente, los genótipos NAY PET-82 y TH STD-82 tuvieron mejor respuesta en ambientes desfavorables y consistentes. Lo anterior demuestra que el mejoramiento de las poblaciones permite obtener variedades de maíz de polinización libre de alto rendimiento y amplia adaptación a las áreas tropicales de México, lo cual concuerda con lo sugerido por varios investigadores (5, 6); así también el uso de los parámetros de estabilidad (3) permitió caracterizar a los genótipos en función de la respuesta al ambiente.

El Cuadro 5 muestra las medias de rendimiento para los grupos de variedades del primer ciclo de selección, separándose los ambientes de climas húmedos y secos de acuerdo con la clasificación climática de Köppen, modificada por García (4) en 1981. Puede verse en términos generales que los grupos de variedades de las poblaciones "Sintético Tropical Dentado", "Tuxpeño Tropical Cristalino", "Población Elite Tropical" y "Sintéticos Experimentales", superaron al promedio de los testigos comerciales en 12%, 14%, 7% y 8%, respectivamente, lo que demuestra el potencial genético de las poblaciones, sobre todo STD y TTC que son más avanzadas desde el punto de vista del mejoramiento.

En ambientes húmedos, se encontró una superioridad con respecto al promedio de los testigos del 17%, 16%, 2% y 6% para los grupos de variedades STD, TTC, PET y Sintéticos, respectivamente; mientras que en ambientes secos hubo una superioridad del 7%, 11%, 8% y 7% con respecto a los testigos para STD, TTC, PET y Sintéticos, respectivamente. Se observa pues que en climas húmedos el grupo superior fue el de STD, lo que era de esperarse por su origen genético (raza Tuxpeño) y geográfico (costa del golfo de México) de la población. En climas secos, fueron superiores los grupos de variedades de TTC y PET. Con respecto a la PET, ésta tuvo mejor comportamiento en ambientes secos, seguramente

Cuadro 3. Localización de ensayos uniformes de variedades experimentales del primer y segundo ciclo de selección recurrente de Hermanos Completos en poblaciones tropicales de maíz en el ciclo agrícola primavera-verano (temporal) 1984 y 1986.

Localidad	Clima*	ASN M** (m)	Precipitación media anual (mm)	Temperatura media anual (°C)	Latitud norte	Longitud oeste
Cotaxtla, Veracruz (1, 2)	Aw ₁ (a) (e)g	15	1 300	25.0	18° 50'	96° 10'
San Andrés Tuxtla, Ver (1)	Am(Wi ^h) (e) (g)	360	1 996	24.5	18° 27'	95° 11'
Campeche, Camp (1)	Awo ^h (w) (i)	8	1 016	26.1	19° 51'	90° 33'
Uxmal, Yuc (1, 2)	Awo	30	1 200	26.0	20° 59'	89° 39'
Chetumal, Q R (1, 2)	Aw ₁ ^h (x) i	6	1 300	26.0	18° 30'	88° 17'
Ocozocuahtla, Chis (1)	Aw ₁ ^h (w) (i)g	864	898	23.6	16° 46'	93° 22'
Villa Flores, Chis (1)	Aw ₁ ^h (w) (i)g	610	1 198	24.6	16° 14'	93° 16'
Venustiano Carranza, Chis (1)	(A) C (W ₂ ^h) (w) big	1 100	1 151	19.1	16° 11'	91° 52'
Soconusco, Chis (1)	Am (w) big	137	2 489	26.0	14° 55'	92° 15'
Costa Oaxaqueña, Oaxaca (1, 2)	Aw ₂ (w) i	190	1 699	26.9	16° 21'	98° 3'
Iguala Gro (1)	Awo (w) (i ^h) g	635	1 086	26.7	18° 22'	99° 33'
Costa de Jalisco, Jal (1, 2)	Aw ₁	400	1 000	24.4	19° 30'	104° 27'
Apatzingán, Mich (1)	BS ₁ (h) w (w) (i ^h) g	500	700	20.1	19° 5'	102° 21'
Colima, Col (1)	Awo	494			19° 15'	103° 43'
Oxa, Camp (2)	Awo					
Tikimul, Camp (2)						
Justicia Social, Yuc (2)	Awo					
Ebano, S L P (2)						

1 Evaluación ciclo primavera-verano (temporal) de 1984 (1er ciclo)

2 Evaluación ciclo primavera-verano (temporal) de 1986 (2do ciclo)

* Clasificación climática de Koopen modificada por García (4)

** Altura sobre el nivel del mar.

Awo = El más seco de los cálidos subhúmedos, cociente precipitación/temperatura (P/T) < 43.2

Aw₁ = Intermedio entre Awo y Aw₂, cociente P/T entre 43.2 y 55.3Aw₂ = El más húmedo de los subhúmedos, cociente P/T > 55.3

Am(w) = Cálido húmedo con porcentaje de lluvia invernal < 5.

BS₁ = Seco o árido con lluvias en verano o cociente P/T > 22.9

debido a que el origen de esta población corresponde a ambientes secos en un lato porcentaje.

Por lo que se refiere a las características agronómicas de las variedades, en el Cuadro 5 se observa en cuanto a días a floración que la mayoría de los materiales que registran valores similares al testigo V-454, son de planta baja. Respecto al porcentaje de acame, es relativamente bajo, y con excepción del CGB-16, el resto de los genótipos tiene porcentajes menores; en cuanto al porcentaje de mazorcas con mala cobertura, se observan valores de 7 hasta 16 que sugieren que la cobertura es aceptable para estas variedades. El porcentaje de mazorcas podridas, no obstante la variación de ambientes, fue relativamente bajo. Finalmente, las calificaciones visuales de planta y mazorca y sanidad de las mismas fueron altas, lo que indica que presentaron buen aspecto y además buena sanidad.

En el Cuadro 7 se presenta el rendimiento medio y los parámetros de estabilidad de variedades de maíz del primer y segundo ciclo de selección recurrente de Hermanos Completos, conducidos durante el temporal de 1986 en nueve localidades del área tropical. Puede verse que de los genótipos superiores al 0.05 de probabilidad, 18 resultaron ser estables (3), de los que destacan los obtenidos del segundo ciclo de selección recurrente: SAT TTC-84 en F₁ y F₂, formados con la recombinación de las 10 mejores progenies de la población "Tuxpeño Tropical Cristalino", seleccionados en San Andrés Tuxtla, Veracruz (SAT) bajo una presión ambiental de altas temperaturas y alta humedad relativa (clima Am) (4), fuerte presencia en forma natural de *Helminthosporium turcicum* en planta y *Diplodia maydis* en mazorca. Lo anterior indica que la localidad de San Andrés Tuxtla, Veracruz, es importante en la selección de progenies con miras a generar variedades estables y de alto

Cuadro 4. Rendimiento promedio y parámetros de estabilidad de variedades experimentales del primer ciclo de selección recurrente de Hermanos Completos. Ciclo primavera-verano (temporal) 1984.

Genealogía	Rendimiento (kg/ha)	Bi	S ² di	Grado de estabilidad
Ocoz Std-82	4 792*	= 1	= 0	Variedad estable
Cgb-23	4 768*	= 1	= 0	Variedad estable
Ig Std-82	4 711*	= 1	= 0	Variedad estable
Cot Ttc-82	4 680*	= 1	= 0	Variedad estable
Vi Std-82	4 671*	= 1	= 0	Variedad estable
Th Ttc-82	4 618*	= 1	= 0	Variedad estable
Ocoz Ttc-82	4 564*	= 1	= 0	Variedad estable
Sat Ttc-82	4 549*	= 1	= 0	Variedad estable
Camp Ttc-82	4 531*	= 1	= 0	Variedad estable
Cgb-21	4 430*	= 1	= 0	Variedad estable
Cgb-20	4 357**	= 1	= 0	Variedad estable
Ig Pet-82	4 357**	= 1	= 0	Variedad estable
Cgb-17	4 352**	= 1	= 0	Variedad estable
Sat Pet-82	4 279**	= 1	= 0	Variedad estable
Cot Pet-82	4 264**	= 1	= 0	Variedad estable
Sat Std-82	4 199**	= 1	= 0	Variedad estable
Cgb-18	4 172	= 1	= 0	Variedad estable
Cgb-24	4 070	= 1	= 0	Variedad estable
Cgb-19	3 908	= 1	= 0	Variedad estable
Vs-525 (1)	3 898	= 1	= 0	Variedad estable
Cgb-16	4 820*	= 1	> 0	Buena respuesta en todos los ambientes pero inconsistente
Cot Std-82	4 501*	= 1	> 0	" "
V-454 (1)	4 489*	= 1	> 0	" "
Th Pet-82	4 383*	= 1	> 0	" "
H-507 (1)	4 355**	= 1	> 0	" "
Vi Pet-82	4 298**	= 1	> 0	" "
V-524 (1)	3 858	= 1	> 0	" "
Test Regional	3 565	= 1	> 0	" "
V-424 (1)	3 548	= 1	> 0	" "
Nay Pet-82	4 395*	< 1	= 0	Respuesta mejor en ambientes desfavorables y consistentes
Th Std-82	4 263**	< 1	= 0	Respuesta mejor en ambientes desfavorables y consistentes

(**) DMS 0 01 = 631

(*) DMS 0 05 = 444

(1) = Testigos

rendimiento. Otro grupo importante son las variedades Combinada 1 F₁ y F₂ y Combinada 2 F₁ y F₂, que sugiere otra forma de explotar efectos aditivos al acumular genes favorables de familias sobresalientes a través de localidades en el trópico mexicano en las poblaciones STD, TTC y PET, las cuales al recombinarse dieron origen a las variedades combinadas. También es importante señalar que de los genótipos superiores, la mayoría proviene de la población TTC, lo que demuestra que ésta tuvo mejor comportamiento a través de los ambientes de evaluación.

Finalmente, en el Cuadro 8 se registran las comparaciones y pruebas de "t" para la variable rendimiento de grano en los diferentes grupos durante el temporal de 1986. En la primera comparación se observa que las variedades del segundo ciclo de selección superaron en un 6% a las variedades del primer ciclo con un valor de "t" calculado de 2.69 altamente significativo, lo que demuestra un avance en la obtención de variedades y en la eficiencia del método en la mejora de las poblaciones (1, 2). Al respecto, varios autores han encontrado ganancias del

Cuadro 5. Rendimiento de grano en kilogramos por hectárea en diferentes grupos de variedades, separados por tipo de clima en la zona sur de México. Ciclo primavera-verano (temporal) 1984.

Grupo de variedad	Rendimiento (kg mz/ha)					
	Climas Aw ₁ Aw ₂ y Am (húmedos)	Relat. (%)	Climas Awo y Bs (secos)	Relat. (%)	General (húmedos y secos)	Relat. (%)
STD	4 198	117	5 108	107	4 522	112
TTC	4 151	116	5 332	111	4 586	114
Sintéticos	3 809	106	5 144	108	4 329	107
Testigos	3 587	100	4 785	100	4 030	100
Criollo	3 068	83	4 489	94	3 565	88

Cuadro 6. Características agronómicas de variedades sobresalientes del primer ciclo de selección recurrente (1984 B).

Orden (número)	Genealogía	Días a flor (d)	Alt. planta (cm)	Porcentaje			Calificación		Sanidad	
				acame	mala cob.	mazorca pod.	planta	mazorca	planta	mazorca
1	CGB-16	60	244	16	16	7	9	9	8	8
2	OCOZ STD-82	58	223	9	10	8	8	7	8	8
3	CGB-23	59	234	10	11	7	9	9	8	8
4	IG STD-82	59	221	11	10	8	8	8	8	8
5	COT TTC-82	58	212	12	10	6	8	8	8	8
6	VF STD-82	59	225	8	13	7	8	8	8	8
7	TH TTC-82	60	215	5	9	7	8	8	7	9
8	OCOZ TTC-82	58	211	11	12	6	8	8	7	9
9	SAT TTC-82	59	216	9	13	6	9	8	8	8
10	CAMP TTC-82	59	216	10	7	8	8	8	7	8
11	COT STD-82	59	221	6	11	8	8	8	7	8
12	V-454 (I)	59	236	15	9	8	9	8	7	8
13										

Calificación, sanidad de planta y mazorca; escala de calificación de 1 a 9, 9 para lo mejor y 1 para lo peor

3% en promedio de rendimiento por ciclo de selección (5, 6, 8).

En la segunda comparación se observa que las variedades experimentales F₁ resultaron ser estadísticamente superiores a las variedades F₂ con un porcentaje relativo del 108% y un valor de "t" calculado de 4.16. Ello indica que hay un decremento en rendimiento al pasar las variedades de F₁ a F₂ (variedades genéticamente estables), lo que sugiere que las variedades deben evaluarse preferentemente en F₂. En la tercera comparación, se observa que las variedades experimentales del segundo ciclo de selección rindieron estadísticamente igual que las sintéticas experimentales denominadas CGB^a, lo que

demuestra que la formación de variedades sintéticas con líneas endogámicas representa otra buena alternativa para capitalizar el potencial genético y, por lo tanto, otra alternativa en cuanto a metodología de mejoramiento. La cuarta comparación hace referencia a la superioridad de las variedades del segundo ciclo de selección con respecto de los testigos que es bastante halagadora (26%) y con un alto potencial para que algunas de ellas puedan ser utilizadas comercialmente, objetivo final del mejoramiento.

Lo anterior demuestra la importancia del mejoramiento de la población en la obtención de variedades de maíz de polinización libre de alto rendimiento (1, 7, 9). Finalmente, la comparación

Cuadro 7. Rendimiento y parámetros de estabilidad en variedades de maíz del primer y segundo ciclo de selección recurrente en la zona sur del país. Ciclo primavera-verano (temporal) (1986).

No. de orden	Genealogía	Rendimiento (kg/ha)	Bi	S ² di	Grado de adaptabilidad
1	Sat Ttc-84 F ₁	3 300*	= 1	= 0	Estable
2	Sat Ttc-84 F ₂	3 229*	= 1	= 0	Estable
3	Combinada 2 F ₁	3 227*	= 1	= 0	Estable
4	H-511	3 186*	> 1	= 0	Respuesta mejor en buenos ambientes y consistentes.
5	Th ₂ Pet-84 F ₂	3 131*	= 1	= 0	Estable
6	Combinada 1 F ₁	3 106*	= 1	= 0	Estable
7	La Huerta Ttc-84 F ₂	3 103*	= 1	= 0	Estable
8	Ig Ttc-84 F ₂	3 044*	= 1	= 0	Estable
9	Lc-27 x D-471	3 034*	= 1	= 0	Estable
10	Cot Ttc-84 F ₂	3 018*	= 1	= 0	Estable
11	Cd. Obregón Ttc-82	3 016*	= 1	= 0	Estable
12	Combinada 1	2 982*	= 1	= 0	Estable
13	Combinada 2	2 888*	= 1	= 0	Estable
14	Th Std-84 F ₁	2 880*	> 1	= 0	Respuesta mejor en buenos ambientes y consistentes.
15	Ocoz Ttc-84 F ₂	2 868*	= 1	= 0	Estable
16	Th Ttc-84	2 839*	= 1	= 0	Estable
17	Cot Std-84 F ₂	2 829*	= 1	= 0	Estable
18	Cgb-23	2 779*	= 1	= 0	Estable
19	Th ₂ Pet-84 F ₁	2 759*	= 1	= 0	Estable
20	Cgb-16	2 745*	= 1	= 0	Estable
21	Th Ttc-82	2 729	= 1	= 0	Estable
22	Cd. Obregón Std-82	2 698	= 1	= 0	Estable
23	Ocoz Std-82	2 647	= 1	= 0	Estable
24	Vf Std-82	2 644	= 1	= 0	Estable
25	Ocoz Std-84	2 621	= 1	= 0	Estable
26	La Huerta Std-84	2 610	= 1	= 0	Estable
27	Th ₁ Pet-84	2 607	= 1	= 0	Estable
28	Sat Std-84	2 598	= 1	= 0	Estable
29	Criollo Regional	2 598	= 1	= 0	Estable
30	Ig Std-84	2 500	= 1	= 0	Estable
31	Ig Std-82	2 489	= 1	= 0	Estable
32	V-454	2 278	= 1	= 0	Estable
33	Vs-525	2 257	= 1	= 0	Estable
34	V-455	1 659	< 1	= 0	Respuesta mejor en ambientes desfavorables y consistentes
35	D-471	1 383	< 1	= 0	Respuesta mejor en ambientes desfavorables y consistentes.

DMS 0.01 = 749

DMS 0.05 = 570

Cuadro 8. Comparación y prueba de "t" para la variable rendimiento de grano en variedades experimentales en nueve localidades de la zona sur de México. Ciclo primavera-verano (temporal) (1986).

No.	Comparación	Rend. (kg/ha)	Relativo (%)	"t" calc.	No.	Comparación	Rend. (kg/ha)	Relativo (%)	"t" calc.
1	Variedades 1er ciclo	2 704	100	2 69**	4	Variedades 2do. ciclo	2 859	126	7 68**
	Variedades 2do. ciclo	2 859	106			Testigos	2 267	100	
2	Variedades 2do. ciclo F1	3 098	108	4 16**	5	Variedades 2do. ciclo TTC	3 017	133	8 94**
	Variedades 2do. ciclo F2	2 859	100			Combinadas	2 935	129	6 50**
						Pt. T	2 869	127	5 86**
3	Variedades 2do. ciclo F2	2 859	104	1 26NS		STD	2 673	118	4 84**
	Variedades sintéticas	2 762	100			Testigos	2 267	100	4 84*

t 0.05 = 1.96; t 0.01 = 2.58

** Significancia de la comparación al 0.01 de probabilidad.

NS = No significativo.

anterior es desglosada por grupos de variedades del segundo ciclo de selección de acuerdo a las poblaciones, con respecto al promedio de los testigos, y se observa una superioridad del 33%, 29%, 27% y 18% para los grupos de variedades de las poblaciones TTC, combinadas, PET y STD, respectivamente; y demuestra la efectividad de la selección recurrente de Hermanos Completos en la formación de variedades (1) y el potencial genético de las poblaciones.

CONCLUSIONES

- Se obtuvieron genótipos "deseables" del primer y segundo ciclo de selección recurrente.
- Las variedades del segundo ciclo de selección rindieron un 6% más que las variedades del primer ciclo.
- Las variedades tuvieron un decremento en rendimiento del 8% al pasar de F_1 a F_2 .
- Las variedades del segundo ciclo de selección recurrente superaron en un 26% al promedio de los testigos.

LITERATURA CITADA

1. COMPTON, W.A.; LONNQUIST, J.H. 1982. A multiplicative selection index applied to four cycles of full-sib recurrent selection in maize. *Crop Science* 22: 981-983.
2. COMSTOCK, R.E. 1978. Quantitative genetics in maize breeding. In *International Maize Symposium Genetics and Breeding (1977)*. Urbana-Champaign, University of Illinois.
3. EBERHART, S.A.; RUSSELL, W.A. 1966. Stability parameters for comparing varieties. *Crop Science* 6:36-40.
4. GARCIA, E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 3 ed. 252 p.
5. HALLAUER, A.R. 1980. Relation of quantitative genetics to applied maize breeding. *Brazil Journal of Genetics* 3:207-233.
6. HALLAUER, A.R.; MIRANDA, J.B. 1981. Quantitative genetics in maize breeding. Iowa State University Press.
7. LONNQUIST, J.H. 1979. Convergent-divergent selection for area improvement in maize. *Crop Science* 19:602-604.
8. MOLL, R.H.; STUBER, C.W. 1971. Comparisons of response to alternative selection procedures initiated with two populations of maize (*Zea mays* L.). *Crop Science* 2:706-711.
9. OYERVIDES, G.M. 1981. Programa de maíz del CIAB. INIA, SARH. p 124-127.

Cajanus cajan L. Millsp. (Gandul) Recurso Forrajero Explotable en México. Su Composición Química¹

A.J. Sandoval*, M.L. Arellano*, J.M. Carranco*, R.F. Pérez-Gil*, P. Balvanera**

ABSTRACT

A study was carried out in Mexico to determine the chemical composition, nutritive value, digestibility and antiphsiological factors of *Cajanus cajan* (pigeon pea) leaf and pod meal as a possible source of forage. Chemical proximate analysis, fibre fractions, *in vitro* dry matter and organic matter digestibility, minerals (calcium, phosphorus and iron), and antiphsiological factors (trypsin inhibitors, hemagglutinins, alkaloids, cyanogenic glucosides, saponins and tannic acid) were determined. Results were: crude protein 18.1%; crude fibre 29.9%; lignin 13.5%; *in vitro* dry matter and organic matter digestibility 53.4% and 50.5% respectively. With respect to calcium, phosphorus and iron content, values were 860, 2.24 and 28.09% mg/100 g respectively. Values for tannic acid were 1321 TIU/g, and 3.18 g/100 g. No alkaloids or saponins in leaves and pods were detected. We can thus conclude that *C. cajan* pods and leaves may be useful as a supplement in the diet of ruminants. However due to its low digestibility and the tannic acid content it is doubtful whether it can be used in monogastric animals.

COMPENDIO

Se analizó la harina de una mezcla de hojas y vainas (sin semillas) de *Cajanus cajan* Millsp. (gandul) con la finalidad de determinar su composición química, digestibilidad y presencia de factores antifisiológicos y poder evaluar su potencial como recurso forrajero en México. Se realizó el análisis químico aproximado, fracciones de fibra, digestibilidad *in vitro* de materia seca y orgánica, minerales (calcio, hierro y fósforo) y factores antifisiológicos (inhibidor de tripsina, hemaglutininas, alcaloides, glucósidos cianogénicos, saponinas y taninos). El contenido de proteína cruda fue del 18.1%; y el de fibra cruda, del 29.9 por ciento. La cantidad de lignina, 13.5%, la digestibilidad *in vitro* de materia seca, 53.4%, y de materia orgánica, 50.5 por ciento. Se detectaron 860 mg/100 g de calcio, 2.24 mg/100 g de fósforo y 28.09 mg/100 g de hierro. Se encontraron 1321 unidades inhibitorias de tripsina (UIT) por gramo y 3.18 g de ácido tánico por cada 100 g de muestra. Alcaloides en forma escasa y trazas de saponinas. No se detectaron hemaglutininas ni glucósidos cianogénicos. Aunque el contenido de proteína cruda en gandul (hojas y vainas sin semilla en estado maduro) es bueno, dada su baja digestibilidad y el problema que pudiera representar el contenido de ácido tánico en su utilización por parte de los animales, puede considerarse como un alimento complementario dentro de la dieta de los rumiantes.

INTRODUCCION

La escasez de alimentos en general —especialmente los de alta calidad proteínica—, aunada bajo poder adquisitivo de la población (16), ha creado una situación de malnutrición en México y en el mundo. En las zonas rurales y en las marginadas de los centros urbanos, la alimentación es la base de dietas pobremente balanceadas (17); por lo que es necesario cubrir sus necesidades nutritivas, incrementando la producción agropecuaria a bajo

¹ Recibido para publicación el 13 de febrero de 1989.

* Departamento de Nutrición Animal, División de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos, Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán", Vasco de Quiroga No. 15, México, D.F. 14000, México.

** Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Jardín Botánico Exterior, Ciudad Universitaria, México, D.F.

costo; lo que en la actualidad, dada la situación existente, es muy difícil de realizar (16).

El cultivo de las leguminosas es una alternativa más para la producción e incremento de alimentos proteínicos. Muchas de ellas han sido poco estudiadas, por lo que se les desconocen sus atributos particulares y, aunque otras ya son conocidas, sus posibilidades de explotación no están totalmente difundidas (24).

Las leguminosas de grano se cultivan en todo el mundo y su utilidad radica en que se emplean tanto en alimentación humana como animal (7). En México, existe la leguminosa de grano, *Cajanus cajan* (L.) Millsp., llamada gandul, guandul, frijol de palo, "pigeon pea", entre otros (2, 21), la cual aunque ya es conocida en varias partes por su calidad alimenticia, en México aún es un recurso no convencional no muy bien investigado y utilizado en pequeñas poblaciones donde crece en forma silvestre.

Dado que *C. cajan* tiene un buen contenido proteico (hasta 18%) (4), sirve como cosecha de cubierta (13); es un forraje potencial anual en otoño (25); se puede alternar con otros cultivos de la misma tierra en diferentes épocas del año, haciéndola más productiva (30); y además existe en México a lo largo de la costa del Pacífico y en la planicie del Golfo de México aún en forma silvestre: surge la inquietud de realizar un estudio de la composición química del gandul para promover su cultivo, mejoramiento y utilización como forraje en México. Por tanto el objetivo del presente trabajo fue determinar su composición química, contenido de minerales, fracciones de fibra, digestibilidad *in vitro* así como factores antifisiológicos de hojas y vainas (sin semilla).

REVISION DE LITERATURA

El gandul es un arbusto perenne o anual originario de la India, que mide de 0.6 m a 3.6 m de altura; su distribución es pantropical (25) de amplia adaptación; su grano es consumido por humanos y las vainas verdes y hojas pueden constituir un forraje excelente; incluso pueden ser henificadas y ensiladas con buenos resultados (21, 29).

La mayoría de los trabajos realizados con *C. cajan* tratan la producción de materia seca (MS) y de proteína cruda (PC), y del desarrollo como forraje o

en diferentes épocas de corte (12). A los 75 d y 90 d de edad, el contenido de proteína cruda es de 15.4% a 17.26% y el de fibra cruda de 34.73% a 40.88%, respectivamente, y la cosecha se aprovecha henificando (14).

El valor nutritivo de la hierba es alto; Bogdan (4) reporta los valores publicados por Akinola con un contenido de PC del 10% al 18% y una digestibilidad del 60% al 88 por ciento. Por otro lado, Kay (20) informa un contenido para hojas y vainas secas del 6% de humedad, 15% de proteína, 14% de fibra. El contenido de minerales fluctúa dependiendo de la maduración de la planta.

Se han realizado estudios con harina de hoja del *gandul*, incluyéndola en un 7.5% al 15% en una ración para pollos de nueve semanas, y se llegó a la conclusión de que dichos niveles no fueron tóxicos ni afectaron la ganancia de peso ni la eficiencia alimenticia (12); incluso en otro estudio, Bo Göhl (5) menciona niveles hasta del 30% en la ración para pollos sin que se afectara la ganancia de peso.

También se han realizado pruebas en cabritos alimentados con forraje verde al 50% de floración con y sin 20% de suplemento con cebada; obteniendo en esta última mayor consumo de materia seca y digestibilidad de los nutrimentos (8). Por otro lado, con cabras jóvenes en pastoreo de *C. cajan* en madurez temprana, se obtuvo una ganancia diaria de peso de 58 g (33), y Bint y Norton, en otro estudio sobre suplemento con sorgo en las primeras seis semanas, lograron una ganancia diaria de peso de 119 g (3).

También se han hecho trabajos con ganado de engorde. Considerando que una hectárea de cultivo puede sustentar de 0.8 a 3.6 cabezas por hectárea, se obtuvieron ganancias diarias de 680 g a 1250 g (4).

Por otro lado, entre otros usos, las hojas tiernas, flores, semillas y raíz se utilizan en la medicina tradicional (6, 23).

MATERIALES Y METODOS

La parte aérea de la planta de *C. cajan* se recolectó en Soyata, San Andrés, Tuxtla, en el Estado de Veracruz, por personal del Jardín Botánico del Instituto de Biología de la Universidad Nacional

Autónoma de México (UNAM), y fue enviada al Departamento de Nutrición Animal de la División de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán", en donde fue analizada.

El sitio de recolección se localiza a 95°17' longitud Oeste y 18°21' latitud Norte a 100 metros sobre el nivel del mar. Su temperatura media anual es de 27°C y su precipitación pluvial de 300 mm (mínima) y 1200 mm (máxima). La planta recolectada corresponde a la variedad de maduración tardía de nueve meses de edad en completo estado de maduración. Al ser recibida, se procedió a separar manualmente hojas (con tallos delgados) y vainas, extrayendo de éstas las semillas destinadas a consumo humano; además se desecharon tallos gruesos que no son consumidos por el ganado, y material ajeno a la muestra (tierra, hierbas y otros). De esta manera únicamente se analizó el material que es consumido actualmente por el ganado en la zona de recolección. La proporción de hojas por vaina se conservó ya que sólo se analizó la cantidad de vainas correspondientes a las plantas recolectadas.

La materia prima se secó a 55°C y se mezclaron y molieron vainas (sin semilla) y hojas en un molino de cuchillas con malla de 1 mm hasta la obtención de la harina. Esta se homogeneizó y una pequeña porción fue molida pasándola por una malla número 60 hasta obtener harina fina para análisis especiales.

Las determinaciones realizadas a la harina fueron: análisis químico aproximado por los métodos de la AOAC (1); fracciones de fibra por el método de Van Soest y Wine (32); digestibilidad *in vitro* de la materia seca y de la materia orgánica por la técnica de Tilley y Terry (31); calcio, hierro y fósforo por los métodos de la AOAC (1); inhibidor de tripsina por la técnica de Kakade *et al.* (19); hemaglutininas por la técnica de Jaffé *et al.* (18); alcaloides por el método cualitativo (11); glucósidos cianogénico y tanino por los métodos de la AOAC (1) y saponinas por la técnica de Monroe *et al.* (22).

Cada determinación se realizó por sextuplicado y se calcularon la media y la desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados del análisis químico aproximado de la harina de hojas y vainas (sin semilla) de *C. cajan*

se pueden observar en el Cuadro 1. El contenido de proteína cruda en base seca fue del 18%; valor que se encuentra dentro de los límites determinados para las leguminosas. La fibra cruda fue elevada y, analizando las fracciones determinadas a ésta (Cuadro 2), se observa que las paredes celulares constituyeron un 47.9 por ciento. El valor de celulosa fue del 23.3%, contenido que no representaría un problema para la alimentación de rumiantes; pues éstos son capaces por medio de los microorganismos de la rumiatura de degradarla y aprovechar como fuente de energía los productos de dicha degradación. De lignina se detectó un 13.5%, valor que es elevado pero que era de esperarse, pues, en general, la cantidad de lignina aumenta conforme va madurando la planta (32) y la presente muestra estaba en estado de maduración completa.

Cuadro 1. Análisis químico aproximado de la harina de mezcla de hojas y vainas (sin semilla) de *Cajanus cajan* (gandul)¹.

	(g/100 g) ²
Proteína cruda (N x 6.25)	18.09 ± 0.17
Fibra cruda	29.88 ± 0.34
Extracto etéreo	5.33 ± 0.41
Cenizas	6.88 ± 0.06
Extracto libre de nitrógeno	39.89

1 Media ± desviación estándar.

2 Base seca

Cuadro 2. Fracciones de fibra de la harina de mezcla de hojas y vainas (sin semilla) de *Cajanus cajan* (gandul)¹.

	(g/100 g) ²
Contenido celular	52.12 ± 0.15
Paredes celulares	47.88 ± 0.15
Celulosa	23.32 ± 0.10
Hemicelulosa	7.84 ± 0.93
Lignina	13.55 ± 0.88
Silíce	1.41 ± 0.13

1 Media ± desviación estándar

2 Base seca

La lignina al estar asociada con los hidratos de carbono de la pared celular, disminuye la digestión de la fibra y de la materia seca en general (31). En la muestra del estudio, este hecho se vio reflejado ya que la digestibilidad *in vitro* tanto de la materia seca como de la materia orgánica fueron bajas (Cuadro 3), siendo del 53.4% y del 50.5%, respectivamente. Sin embargo aunque los resultados de esta investigación fueron bajos, otros autores han informado que la digestibilidad del *C. cajan* es adecuada y que incluso cuando se suplementa con otros alimentos puede ayudar a aumentar el consumo voluntario de materia seca (3, 8, 27, 28, 33).

Cuadro 3. Digestibilidad *in vitro* de materia seca y materia orgánica en harina de mezcla de hojas y vainas (sin semilla) de *Cajanus cajan* (gandul)¹.

Digestibilidad <i>in vitro</i>	(g/100 g)
Materia seca	53.41 ± 1.24
Materia orgánica	50.51 ± 0.79

1 Media ± desviación estándar

En cuanto a los minerales (Cuadro 4), el calcio determinado a la muestra, 860 mg/100 g, podría ayudar a cubrir parte de las necesidades de los animales; aunque debe considerarse que éstas van a depender de la etapa de desarrollo y función de ellos (10). El fósforo resultó deficiente, 2.84 mg/100 g, como sucede generalmente con gran parte de los forrajes que consume el rumiante. Además es importante considerar en este punto que los minerales no se absorben en su totalidad, sino que únicamente cierto porcentaje de lo consumido.

Cuadro 4. Contenido de minerales en la harina de mezcla de hojas y vainas (sin semilla) de *Cajanus cajan* (gandul)¹.

Calcio	860 ± 0.05 mg/100 g
Fósforo	2.84 ± 0.04 mg/100 g
Hierro	28.09 ± 1.02 mg/100 g

1 Media ± desviación estándar

En las leguminosas es frecuente encontrar la presencia de algunos factores antifisiológicos. En el *C. cajan* analizado se detectó un inhibidor de tripsina en bajas cantidades (Cuadro 5) que no afectarían su consumo por parte de los animales; incluso se ha reportado que en la utilización de niveles del 7.5% al 15% del *C. cajan* en dietas para pollos, no se observaron alteraciones en la eficiencia alimenticia ni retraso en el crecimiento (12).

Cuadro 5. Factores antifisiológicos en la harina de mezcla de hojas y vainas (sin semilla) de *Cajanus cajan* (gandul).

Inhibidor de tripsina	1327.15 UII/g ¹
Hemaglutininas ²	Humano (-) Bovino (-) Conejo (-)
Alcaloides ² (prueba cualitativa)	Reactivo Mayer (+) Reactivo Wagner (+) Reactivo Dragendorff (+) Reactivo Sonnenschein (-)
Glucósidos cianogénicos	No detectados
Saponinas	(trazas)
Acido tánico	3182.51 mg/100 g ± 0.059

1 Unidades inhibitorias de tripsina

2 (-) no detectado
(+) escaso o dudoso
(++) moderado
(+++) abundante

Las hemaglutininas no se detectaron en sangre humana ni bovina ni cunícola. La prueba cualitativa de alcaloides indicó su presencia en forma escasa o dudosa en tres de los cuatro reactivos utilizados; no se conoce el tipo de alcaloides, ya que tan sólo en las especies dicotiledóneas se han detectado 3600 distintos alcaloides (11). Si se quiere conocer los alcaloides presentes en *C. cajan*, es necesario realizar técnicas específicas para cada uno.

No se detectaron glucósidos cianogénicos y se encontraron trazas de saponinas que no parecen representar un problema para el consumo de esta planta. La cantidad de ácido tánico determinada fue de 3.18 g/100 gramos. Los taninos son polifenoles que inhiben algunas enzimas; en la rumiatura

disminuyen el ARN, ADN y los ácidos grasos volátiles; aumentan la proteína en el fluido ruminal e inhiben el crecimiento bacteriano (9, 15); sin embargo, aunque existen datos sobre la cantidad de taninos que es perjudicial para pollos (2%) (26), no se encontró información sobre los niveles de ácido tánico que causan problemas en rumiantes.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se puede concluir que aunque el contenido de proteína cruda es buena—dada la baja digestibilidad del *C. cajan* (hojas y vainas sin semilla en completo estado de maduración), y el posible problema que podría representar el contenido de ácido tánico en la utilización de la planta por parte de los animales— el *C. cajan* puede ser usado como un alimento complementario en la dieta de los rumiantes; sin embargo se recomienda realizar más estudios en el país acerca de su composición en las diferentes etapas vegetativas para estudiar cuál es la que aporta óptimos resultados (en cuanto a rendimiento y nutrimentos) con un aprovechamiento integral de la planta, tanto en alimentación animal como humana. También se sugieren pruebas de composición química y comportamiento animal con ensilajes con base en gandul para tratar de promover su mejoramiento y cultivo e integrar este recurso en la producción animal de México.

LITERATURA CITADA

1. AOAC (THE ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). 1984. Official methods of analysis. 14 ed. Washington, D.C.
2. AYKROYD, W.R.; DOUGHTY, J. 1964. Las leguminosas en la nutrición humana. Roma, FAO.
3. BINT, J.S.; NORTON, B.W. 1983. An evaluation of pigeon pea (*Cajanus cajan*) (L.) Millsp.) as a forage for grazing goats. Proceedings of the Australian Society of Animal Production 14:471-474.
También en: Nutrition Abstracts and Review. Series B: Livestock Feeds and Feeding 53(8):554.
4. BOGDAN, A.V. 1977. Tropical pasture and fodder plants. New York, Longman.
5. BO GOHL, ?. 1982. Piensos tropicales. Roma, FAO. Colección FAO: Producción y Sanidad Animal no 12.
6. BURKART, A. 1952. Las leguminosas argentinas. Buenos Aires. ACME.
7. CUBERO, J.I.; MORENO, M.T. 1983. Las leguminosas de grano. Madrid, Mundi-Prensa.
8. CHARAN, S.; KUMAR, P.; REKIB, A. 1982. Nutritional value of green arhar fodder (*Cajanus cajan*) for growing barbari kids. Indian Journal Nut. Diet 18:69-76.
También en: Nutrition Abstracts and Review. Series B: Livestock Feeds and Feeding 52(6):346.
9. CHAVAN, J.K.; KADAM, S.S.; GHONSIKAR, C.P.; SALUNKHE, D.K. 1979. Removal of tannins and improvement of *in vitro* protein digestibility of sorghum seeds by soaking in alkali. Journal of Food Science 44:1319-1321.
10. CHURCH, D.C. 1979. Digestive physiology and nutrition of ruminants. 2 ed. Corvallis, Oregon O & B Books. v. 2.
11. DOMINGUEZ, X.A. 1973. Método de investigación fitoquímica. México, D.F., Limusa.
12. EMBONG, W.M.; RAVOOF, A.A. 1981. Investigation of pigeon pea (*Cajanus cajan*) as a legume forage. In Feedingstuffs for Livestock in South East Asia. Malaysian Society for Animal Production Selangor.
También en: Nutrition Abstracts and Review. Series B: Livestock Feeds and Feeding 51(3):130.
13. ESCALANTE, E.C. 1946. Cultivo del frijol de árbol o gandul. Tierra (Méx.) 1:13,14,15.
14. FAVORETTO, V.I. 1979. Efeito de época de corte sobre a produção e composição: Bromatológica do guandu (*Cajanus cajan* L. Millsp). Científica 7:505-510.
15. FERNANDEZ, M.J. 1983. Cuantificación de taninos en muestras de sorgo (*Sorghum vulgare*) procedente de varios estados de la república mexicana. Tesis Lic. México, D.F., Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
16. FERNANDEZ, R.J. 1982. Comparación de la productividad en kg de carne/ha de los pastizales nativos (*Paspalum* sp, *Axonopus* sp) con y sin la introducción de leguminosas (*Glycine* Wight. and Arn.? var. Cooper y *Macrotyloma axillares*) y zacate elefante (*Pennisetum purpureum*) Tesis Lic. México, D.F., Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
17. GARCIA, M.M. 1984. Algunos aspectos sobre el valor nutritivo, evaluación biológica y factores toxicológicos de la chaya (*Cnidoscolus chayamansa*) para la alimentación humana. Tesis Lic. Veracruz, Ver., Universidad Veracruzana, Facultad de Nutrición.

18. JAFFE, W.G.; LEVY, A.; GONZALEZ, D.I. 1974. Isolation and partial characterization of bean phytohemagglutinins. *Phytochemistry* 13:2685-2693.
19. KAKADE, M.L.; RACHIS, J.J.; MCGHEE, J.E.; PUSKI, G. 1974. Determination of trypsin inhibitors activity of soy products: A collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chemistry* 51:376-382.
20. KAY, D.E. 1979. Food legumes, crop and product digest. London, Tropical Products Institute. no. 3.
21. MATEO, B.J. 1961. Las leguminosas de grano. La Habana, Cuba, Instituto del Libro, Edición Revolucionaria.
22. MONROE, E.E.; WALL, E.; ROLLAND, M.L. 1952. Detection and estimation of steroidal sapogenin in plant tissue. *Analytical Chemistry* 24(8):1337-1341.
23. MORTON, J.F. 1976. The pigeon pea (*Cajanus cajan* Millsp.): A high protein, tropical bush legume. *HortScience* 11:11-19.
24. NAS (NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE). 1979. Tropical legumes: Resources for the future. Washington, D.C.
25. NORMAN, J.J.T.; SEARLE, P.G.E.; INGRAN, K.C.; BASKORO, J.B. 1980. Evaluation of pigeon pea (*Cajanus cajan*) as an autumn forage for coastal New South Wales. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* 20:55-62.
26. PRICE, M.L.; HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. 1980. Tannin content of cowpeas, chickpeas, pigeon peas and mongbeans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 28:459-461.
27. REUNION DE INVESTIGACION PECUARIA EN MEXICO (1986, México, D.F.). 1986. Consumo voluntario y digestibilidad del pasto nativo (*Axonopus* sp.; *Paspalum* spp.) suplementado con dos niveles de gandul (*Cajanus cajan*) en borregos pelibuey. Memorias. Livas y Murrieta. SARH/UNAM.
28. RUIZ, G.; FOULKES, D.; PRESTON, T.R. 1979. Digestibility and voluntary intake of derinded cane and stalk supplemented with different forages. *Tropical Animal Production* 4:109-110.
29. SAENZ, M.A. 1955. Los forrajes de Costa Rica. San José, C.R., Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía, Editorial Universitaria.
30. SOLDEVILA, M.; SALAS, H.B. 1978. Utilization of pigeon pea (*Cajanus cajan*) by products as feed for beef cattle. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico* 62:424-427.
31. TEJADA, I. 1983. Manual de laboratorio para análisis de ingredientes utilizados en la nutrición animal. México, D.F., Patronato de Apoyo a la Investigación y Experimentación Pecuaria en México.
32. VAN SOEST, P.J. 1982. Nutritional ecology of the ruminant. Corvallis, Oregon OB Books.
33. WIJNBERG, C.; WHITEMAN, P.C. 1985. Effect of stocking rate of goats and stage of crop growth when grazed on grain yield and goat production from pigeon pea (*Cajanus cajan*). *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* 25:796-805.

Nitratos en un Suelo Cultivado con Trigo: Variabilidad Espacial e Influencia del Cultivo Antecesor¹

M.M. Zubillaga*, J. Sierra*, L. Barberis*

ABSTRACT

Soil incubation experiments were carried out under field conditions during a wheat growing season from fallow to crop period to analyze N-NO₃ production and its spatial variability. Two plots having two different cultivation predecessors (corn: plot AM and soybean: plot AS) were sampled in each case along a transect. The semivariogram technique was used to study spatial variability. Coefficients of variation of the N-NO₃ production were between 40 and 120%, and in no instance was spatial dependence observed in the mineralization process. All the variance could thus be related to short range effects (less than 10 m). A comparative analysis was possible as no spatial structure was found in neither of the plots. Plot AS mineralized 15% more than plot AM, during the whole experiment, this differences could be located along the sowing-tillering stage. Net mineralization rate was 4.5 times greater for plot AM than for plot AS. Possible causes of the observed differences as well as the influence of spatial variability on the number of samples needed to detect effects of interest are discussed.

COMPENDIO

Se realizaron incubaciones de suelo *in situ* con el objetivo de estudiar la producción de nitratos y su variabilidad espacial en un suelo cultivado con trigo. El ensayo transcurrió desde el barbecho hasta la cosecha. El muestreo se realizó sobre transectos en dos lotes, uno en que el cultivo antecesor fue soja y otro en que fue maíz. Los coeficientes de variación de la producción de nitratos oscilaron entre 40% y 120%; en ningún caso se halló dependencia espacial en la mineralización, por lo que toda su variancia es atribuible a factores de corto alcance (menores a 10 m). La ausencia de estructura espacial permitió el análisis comparativo de esa variable en las dos condiciones de cultivo antecesor. El lote en que el antecesor fue soja produjo un 15% más de nitratos en todo el experimento; esta diferencia se concentra en la época de siembra-macollaje en que la mineralización neta fue 4.5 veces mayor que la del lote en que el cultivo antecesor fue maíz. Se discuten aquí las posibles causas de las diferencias halladas y la influencia de la variabilidad espacial encontrada sobre el número de muestras necesarias para detectar efectos de interés.

INTRODUCCION

En el norte de la Provincia de Buenos Aires y en el sur de la Provincia de Santa Fe (entre 33° 30' y 34° de latitud Sur y entre 60° y 61° de longitud Oeste), existen sistemas de diagnóstico de la fertilidad nitrogenada en trigo, utilizados para hacer más confiables y racionales los planes de fertilización (1, 6). Una línea de estudio

para perfeccionar dichos sistemas consiste en evaluar la capacidad de mineralización de los suelos, y cómo influye sobre ella la historia reciente de la misma.

Existe en la actualidad un interés creciente en estimar la producción de N-NO₃ *in situ* sobre muestras que conserven la estructura natural del suelo, con el objetivo de lograr una mayor aproximación al proceso real (7, 13).

Trabajos recientes muestran la alta variabilidad espacial que presenta la mineralización de N en esas condiciones (9, 13), la cual condiciona la utilización

¹ Recibido para publicación el 31 de octubre de 1988.

* Departamento de Suelos, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires (UBA), Av. San Martín 4453 (1417), Buenos Aires, Argentina.

de un valor dado de producción de $N-NO_3^-$ debido a que su desvío estándar puede igualar o aun duplicar el promedio.

El estudio de la variabilidad espacial de propiedades del suelo ha sido encarado generalmente por medio de la estadística clásica; actualmente se sabe que el supuesto de independencia no siempre se cumple, por lo que dicho análisis carece de valor en esos casos (12). Uno de los métodos empleados para determinar la presencia de correlación espacial (o ausencia de independencia) es la técnica del semivariograma, la cual permite establecer la parte de la variancia poblacional debida a dicha correlación y aportar información para el análisis estadístico posterior (11).

Los objetivos de este trabajo han sido: medir la producción de $N-NO_3^-$ en un suelo destinado al cultivo de trigo; evaluar la variabilidad espacial del proceso, para determinar un manejo adecuado de los datos experimentales; y evaluar la sensibilidad de la técnica de incubación en campo para diferenciar la influencia de distintos cultivos antecesores sobre la mineralización del nitrógeno.

MATERIALES Y METODOS

Suelo y diagrama del ensayo

El suelo utilizado es un Argiudol Típico ubicado en Juncal (Provincia de Santa Fe). Algunas características del horizonte superficial se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Algunas características del horizonte superficial de los suelos utilizados.

Antecesor	pH	CI (%)	NI (%)	Textura
Maíz	6.5	2.18	0.210	franco
Soja	6.5	2.15	0.182	franco

Se utilizaron dos lotes contiguos destinados a trigo, uno en que el cultivo antecesor fue soja (AS) y otro en que fue maíz (AM). En ambos lotes se efectuaron incubaciones de suelo en cuatro períodos; en cada uno de ellos se extrajeron 25 muestras a lo largo de un transecto, la distancia entre sitios de muestreo fue de 10 metros. El experimento

transcurrió desde el barbecho hasta la cosecha del trigo. Las fechas de muestreo figuran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Momento de muestreo.

Fecha de muestreo	Estado del cultivo
12/6	barbecho
29/7	siembra
05/9	macollaje
20/10	floración
26/11	cosecha

Técnica de incubación

La producción de nitratos en el campo se estimó mediante la técnica descrita por Sierra *et al.* (8). En cada sitio de incubación se enterraron dos cilindros de PVC de 5 cm de altura, 6 cm de diámetro y 2 mm de espesor. Una de las muestras se utilizó para las determinaciones iniciales. El cilindro restante fue introducido en una bolsa de polietileno de 20 μ m de espesor, se protegió con una caja plástica perforada para permitir una correcta aireación y se enterró en el sitio de extracción.

En las muestras iniciales y finales de cada período se determinó la humedad con un gravímetro y el $N-NO_3^-$ con un colorímetro (2). En las determinaciones de nitratos se efectuaron todos los análisis por duplicado, extrayendo dos alícuotas de la muestra de suelo previamente homogeneizada.

La estimación de la producción de $N-NO_3^-$ se realizó comparando la diferencia entre el contenido final e inicial de $N-NO_3^-$.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó para las siguientes variables: situación inicial (SI): contenido de $N-NO_3^-$; cantidad de nitratos en el cilindro al finalizar el período; producción de nitratos (PROD): diferencia entre SF y SI; y humedad inicial (H): porcentaje de humedad al comenzar el período de incubación.

Además del análisis clásico (estimación de medidas de posición y dispersión) se procedió a calcular la semivariancia de las distintas variables; para esto se

supone que cada propiedad medida es una función aleatoria del espacio (4, 11).

La semivariancia se define:

$$\delta(h) = 1/2 N(h) \sum_{i=1}^n (Z(x_i) - Z(x_i + h))^2 \quad (1)$$

siendo $N(h)$ el número de pares de observaciones experimentales, $Z(x_i)$ y $Z(x_i+h)$ un par de observaciones, y h , el vector distancia, representa el LAG o intervalo de muestreo entre sitios. Por ejemplo, LAG 1 implica que se toman pares de muestras distanciadas 10 m; LAG 2, pares de muestras distanciadas 20 m y así sucesivamente; por lo tanto, h tal como se considera aquí es adimensional.

Con los valores de γ se constituyeron 32 semivariogramas, uno por cada propiedad en cada período de medición.

RESULTADOS Y DISCUSION

Variabilidad espacial de la producción de nitratos

En la Figura 1 se muestra un semivariograma ideal; la semivariancia crece con la distancia alcanzando un valor constante igual a la variancia a una distancia "a" denominada rango (3), que es la distancia dentro de la cual existe dependencia espacial. La semivariancia debe tender a cero cuando "h" tiende a cero, sin embargo, en semivariogramas experimentales esto no ocurre en todas las situaciones.

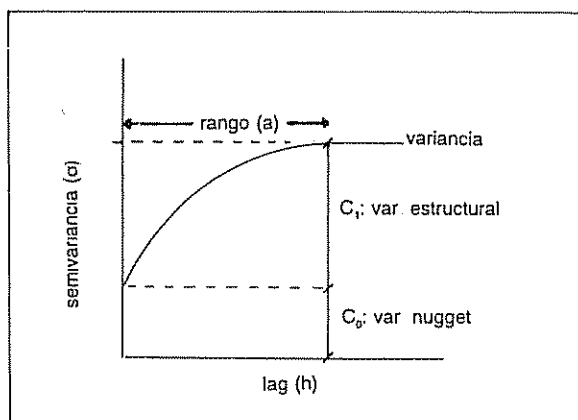


Fig. 1. Semivariograma ideal.

Esta variancia distinta de cero se denomina *nugget* (C_0) y representa la variabilidad de la propiedad que no es detectable a la escala de muestreo; C_1 es la contribución a la variancia debida a la correlación espacial (10).

Si para cualquier distancia, el semivariograma oscila alrededor de la variancia poblacional, implica que existe efecto *nugget* puro: toda la variancia puede explicarse por efectos de distancia menor a la del muestreo (efectos de rango corto); esto último sucede para los valores de PROD (Figs. 2a y 2b) y SF de esta experiencia.

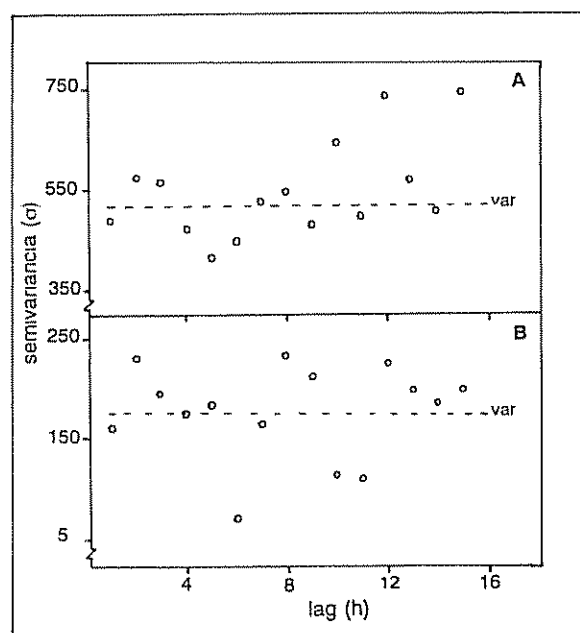


Fig. 2. Semivariogramas correspondientes a producción del segundo período: a- Antecesor soja, b- Antecesor maíz. Las unidades de γ son $(\text{ppm N})^2$.

En SI sólo se halló estructura espacial en el segundo período de lote AS (Figs. 3a y 3b) y para H en el tercer período del lote AS y cuarto período del lote AM.

La existencia de efecto *nugget* puro en PROD confirma lo hallado por Sierra *et al.* (9), en mediciones similares realizadas en suelos cultivados con maíz en la misma zona. Estos autores concluyeron que la cantidad de sustrato por mineralizar y el grado de compactación del suelo, serían las principales fuentes de microvariabilidad, factores que al variar

en distancias pequeñas determinan la ausencia de correlaciones especiales.

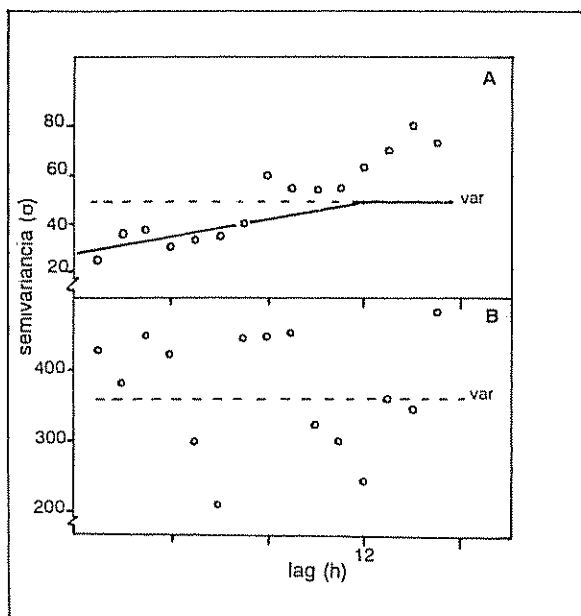


Fig. 3. Semivariogramas correspondientes a situación inicial del segundo período: a- Antecesor soja, b- Antecesor maíz. Las unidades de γ son $(\text{ppm N})^2$.

Los mismos autores encontraron estructura espacial en la variable SI en tres de ocho casos analizados. Los resultados aquí expuestos muestran un sólo caso sobre ocho, por lo que puede concluirse que alguno o algunos de los factores que determinan el balance de ganancias y pérdidas de N-NO_3^- , condiciona la aparición circunstancial de estructura espacial en SI; como la mineralización nunca posee estructura, serían las variables de pérdida (lixiviación, absorción vegetal, otros) las que provocan la presencia de correlación espacial en SI.

En ese sentido, el análisis de dichas variables permitiría explicar la evolución del contenido de N-NO_3^- en el suelo a partir de los semivariogramas, mediante la teoría de los "fractals" (3), con la que se pueden diferenciar factores que producen dependencia espacial.

Al comprobarse la ausencia de dependencia espacial en la variable PROD, puede asumirse la independencia entre sitios y utilizar la estadística clásica en el análisis comparativo entre antecesores (5).

Producción de nitratos en función del tiempo

En la Figura 4 se presentan los valores de producción por día y para cada período y lote. Durante el barbecho la producción diaria no presentó diferencias significativas entre lotes; sin embargo, en el siguiente período (siembra-macollaje) se produjo un máximo de mineralización neta en el lote AS que representa 4.5 veces la producción en el lote AM.

En macollaje-espigazón la situación se invierte y en el lote AM la velocidad de aparición de N-NO_3^- supera 1.5 veces la del lote AS. En el último período las producciones respectivas no muestran diferencias significativas.

Es interesante marcar que sólo en el período siembra-macollaje existen diferencias significativas entre variancias.

Los valores obtenidos implican, para el lote AS, una mineralización neta de 5.1, 13.0, 7.6 y 5.9 kg N ha^{-1} en los sucesivos períodos en la capa de 5 cm estudiada, y en el lote AM de 6.7, 2.9, 10.7 y 6.4 kg N ha^{-1} . Extrapolando los valores citados a todo el horizonte A (aproximadamente 20 cm), la producción habría sido de 127 y 107 kg N ha^{-1} para AS y AM respectivamente, en todo el experimento. Obviamente, estas últimas cifras sobreestiman la mineralización real, pues se basan en la capa de mayor producción; sólo se incluyen con carácter ilustrativo.

Las diferencias halladas en el período siembra-macollaje, sugieren una liberación de N del residuo de soja incentivado por las labores previas a la siembra del trigo; la medición de barbecho no refleja esta producción, pues la incubación comenzó antes de que se removiera el suelo; no obstante, los datos de SI en siembra son significativamente mayores en el lote AS.

En forma paralela, la variancia también es mayor en el lote AS, lo que indicaría la presencia de sitios con mayor cantidad de sustrato mineralizable, producto de la heterogeneidad en la distribución espacial del N aportado por la soja.

Las diferencias que existen en favor del lote AM en el período macollaje-espigazón, no tienen una clara explicación, pero hacen suponer un proceso de inmovilización parcial anterior y una liberación de N en este período; esto concuerda con los bajos valores de PROD hallados en siembra-macollaje (Fig. 4); sin

embargo, esta hipótesis no es totalmente satisfactoria teniendo en cuenta el tiempo transcurrido desde la incorporación del rastrojo del maíz antecesor en el mes de abril.

Analizando los valores acumulados de PROD, sólo se observaron diferencias significativas hasta macollaje en favor del lote AS; en las PROD totales (barbecho a cosecha) no existieron diferencias significativas entre lotes.

Queda por cuantificar si las diferencias en períodos específicos se trasladan a los rendimientos, teniendo en cuenta que la máxima tasa de mineralización en el lote AS ocurre en la época previa a la de mayor absorción de N por el vegetal.

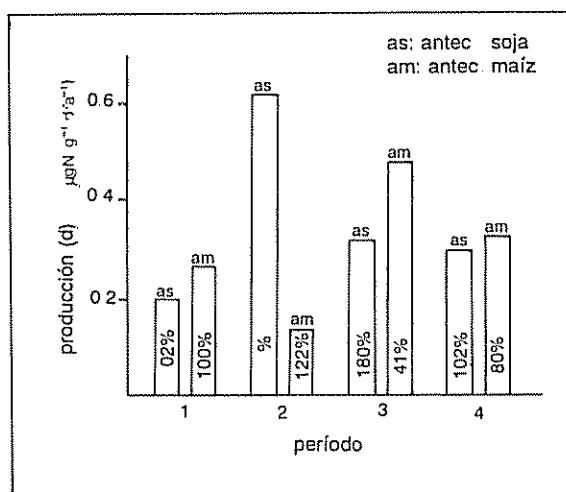


Fig. 4. Producción diaria de nitratos ($\text{g N g}^{-1} \text{día}^{-1}$). Los porcentajes dentro de las barras son los coeficientes de variación.

Número mínimo de muestras

Los coeficientes de variación calculados para PROD oscilaron entre 40% y 120 por ciento. Esta gran variabilidad determina que es conveniente conocer el número mínimo de muestras necesarias para lograr detectar una diferencia en la producción de nitratos que sea de interés.

Este cálculo se realizó estableciendo un nivel de significación del 5% y un Error Tipo II (β) igual al 10% (5). Para el valor medio de variancia en este ensayo se obtuvo que, si se desea detectar una

diferencia de 20 kg N ha^{-1} (capa de 0 - 20 cm), son necesarias 30 muestras, y 105, si la diferencia es de 10 kg N ha^{-1} . Estos números mínimos se elevan a 50 y 130 si se toman las variancias más altas en este ensayo.

Esto significa que, si se utiliza el número de muestras de este experimento, sólo es posible detectar diferencias apreciables entre tratamientos en períodos con alta variabilidad espacial.

CONCLUSIONES

En ninguna de las situaciones analizadas se observó dependencia espacial en la producción de N-NO_3^- , por lo que factores que actúan a distancias menores de 10 m son responsables de toda la variancia de este proceso. Los coeficientes de variación oscilaron entre 40% y 120%, lo que demuestra su alta variabilidad espacial, y hace necesario un gran número de muestras por unidad experimental para lograr estimaciones estadísticas confiables.

El método de incubación en el campo ha mostrado utilidad para medir la influencia de distintos cultivos antecesores sobre la mineralización de N; en este sentido el lote con antecesor soja produjo un 15% más que el lote con antecesor maíz. Esta diferencia se establece principalmente en el período siembra-macollaje, etapa previa a la máxima absorción de N por el trigo.

Este tipo de mediciones *in situ* son de utilidad cuando se desea cuantificar el efecto de distintos manejos sobre la dinámica del N, y hacer más confiables las recomendaciones sobre uso de tecnología, incluyendo la práctica de fertilización.

LITERATURA CITADA

- BARBERIS, L.; NERVI, A.; DEL CAMPO, M.; CONTI, M.; URRICARIET, S.; SIERRA, J.; DANIEL, P.; VAZQUEZ, M.; ZOURARAKIS, D. 1983. Análisis de la respuesta del trigo a la fertilización nitrogenada en la Pampa Ondulada y su predicción. *Ciencia del Suelo* 1(2):51-64.
- BURROUGH, P. 1983. Multiscales sources of spatial variation in soil. II. A non-brownian fractal model and its application in soil survey. *Journal of Soil Science* 44(3):598-642.

3. CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CIENCIA Y TECNICA. LABORATORIO DE QUIMICA GEOLOGICA Y EDAFOLOGIA. 1983. Carpeta de análisis rutinarios. 52 p.
4. GUIJAHT, A. 1985. Spatial variability: Geostatistical methods. In *Soil Spatial Variability*. D.R. Nielsen, J. Bouma (Eds.). Wageningen, Pudoc. p. 9-34.
5. INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA. ESTACION EXPERIMENTAL AGRICOLA. 1983. Carpeta de producción vegetal: Trigo. Información no. 58. 35 p.
6. OSTLE, B. 1965. Estadística aplicada. ed. México, Méx., Limusa. 629 p.
7. RAISON, R.J.; CONNELL, M.J.; KHANA, P.K. 1987. Methodology for studying fluxed of soil mineral N *in situ*. *Soil Biochemistry* 19(5):521-530.
8. SIERRA, J.; ZOURARAKIS, D.; NOVAS, G.; URRICARRIET, S.; BARBERIS, L. 1986. Producción de nitratos en función del tiempo en incubaciones a campo de suelos bajo cultivo de maíz. In Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo (11.). Actas.
9. SIERRA, J.; DI PIETRO, L.; HASHIMOTO, P.; BARBERIS, L. 1988. Variabilidad espacial de la producción de nitrógeno mineral en suelos bajo condiciones de campo. In Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo (17). Actas. (En prensa).
10. TRANGMAR, B.B.; YOST, B.S.; UEHARA, G. 1985. Application of geostatistics to spatial studies of soil properties. *Advances in Agronomy* 38:45-91.
11. VIEIRA, S.R.; HATFIELD, J.L.; NIELSEN, D.R.; BIGGAR, J.W. 1983. Geostatistical theory and application to variability of some agronomical properties. *Hilgardia* 51:1-75.
12. WARRICK, A.W.; NIELSEN, D.R.; BIGGAR, J.W. 1980. Spatial variability of soil physical properties in the field. In *Practical Applications of Soil Physics*. D. Hillel (Ed.). New York. p. 319-344.
13. ZOURARAKIS, D.; URRICARRIET, S.; SIERRA, J.; BARBERIS, L. 1987. Medición de la capacidad de mineralización de suelos mediante la técnica de incubaciones *in situ*. *Revista Facultad de Agronomía* 8(3):101-114.

RESEÑA DE LIBROS

ROSALES ESPINOSA, F.; CORREA GIRÓN, P.
El síndrome del ojo azul. Palo Alto, Méx., Instituto de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, SARH. 1989. *Revista Técnica Pecuaria (Méx.)* 27(3):101-116.

Este artículo presenta una revisión bibliográfica sobre el "Síndrome del Ojo Azul" (SOA), nueva enfermedad nerviosa observada en cerdos, a principios de 1980, en la Piedad, Michoacán, México. Esta enfermedad se caracteriza por la opacidad azul turquesa de la córnea transparente en algunos de los afectados, atribuida a un virus hemoaglutinante, posteriormente caracterizado y denominado **Paramyxovirus porcino (LPM)**. Serológicamente no tiene relación con otros **Paramyxovirus** ni con diversos virus de parainfluenza.

Los autores hacen una amplia revisión bibliográfica sobre diversos aspectos de la enfermedad: historia, etiología y otras enfermedades asociadas al SOA; cultivo del virus *in vitro*; transmisión experimental; difusión, curso y signos clínicos, patogenia y lesiones; histopatología, inmunidad, diagnóstico, prevención, tratamiento, control y distribución; y sus efectos económicos.

El artículo incluye al final todas aquellas obras citadas en el artículo, y que sobre el "Síndrome del Ojo Azul" se han producido, especialmente en México.

FANNY DE LA TORRE
SEDE CENTRAL, IICA

Soil-Loss Tolerance of Some Nigerian Soils in Relation to Profile Characteristics¹

J.S.C. Mbagwu*

ABSTRACT

The soil-loss tolerances of five important agricultural soils covering three orders (Inceptisols, Alfisols and Ultisols) in southern Nigeria were evaluated using the following criteria: nutrient distributions within the soil profiles; productivity of the Ap and B horizons with and without inorganic fertiliser amendments; relative yield recovery on desurfaced soils in the field with and without inorganic fertiliser amendments; and present soil depth and rate of new soil formation. Soil-loss tolerance differed according to the assessment method used. An average ranking of the soils using data from the various assessment methods showed an order of tolerance of Inceptisols > Alfisols > Ultisols, which differed slightly from the fertility status order of the soils. This indicates that the productivity of these soils more than their nutrient status has a greater influence on their tolerance to erosion. The merits of this approach of evaluating soil-loss tolerance are discussed.

INTRODUCTION

The acceptable limit of erosion known as "soil-loss tolerance" is defined as the maximum rate of soil erosion that will economically and indefinitely permit sustained crop productivity (20). The extent to which erosion is a problem in any locality depends on whether these limits are exceeded naturally. While value judgements play a considerable role in arriving at these limits, certain soil profile characteristics, notably nutrient distribution within the profiles, rooting depth and

COMPENDIO

Se han determinado los límites de tolerancia a la erosión en cinco importantes suelos agrícolas del sur de Nigeria, que cubren tres órdenes distintos (Inceptisols, Alfisols, Ultisols), adoptando los siguientes criterios: distribución de nutrimentos en el perfil del suelo; productividad de los horizontes Ap y B con o sin fertilización inorgánica; relativa recuperación de la cosecha en el campo, en suelos erosionados superficialmente, con o sin fertilización inorgánica; profundidad actual; y tasa de neoformación del suelo. El límite de tolerancia a la erosión del suelo difiere según el método de determinación que se ha utilizado. Se puede establecer un grado medio de erosión de los suelos, a partir de los datos de las diferentes determinaciones, observando un grado de tolerancia en este orden: Inceptisols > Alfisols > Ultisols que difiere poco del estado de fertilidad del suelo. Esto indica que en relación con la tolerancia a la erosión, la productividad de estos suelos es más importante que su estado nutricional intrínseco. Se discute el valor de esta evaluación tentativa de los límites de tolerancia a la erosión.

physico-chemical properties of the subsoil horizons are taken into consideration (6). Bauer (2) also emphasized that erosion can only be considered very serious in any locality if the residual soil productivity cannot be restored by improved soil management practices.

According to Lal (8), where the fertility levels and the physical conditions of the removed topsoil are identical with those of the exposed subsoil as in the deep Andisols and Inceptisols of volcanic origin in Hawaii and Puerto Rico, crop yields may not be depressed as a result of soil erosion. In this case more on-site erosional losses may be tolerated from such a soil. If, however, the nutrients are concentrated in the

¹ Received for publication 29 February 1988.

* Lecturer in Land Resource Conservation; Department of Soil Science, University of Nigeria, Nsukka, Nigeria.

top 0 - 5 cm of the soil as in the shallow Oxisols, Ultisols and Alfisols in West Africa, topsoil loss will lead to drastic decline in soil productivity.

Attempts to quantify the soil-loss tolerance of tropical soils are few. Lal (8) obtained average annual soil-loss tolerance values of eight shallow, gravelly soils in western Nigeria ranging from 0.2 to 2.0 t ha⁻¹ yr⁻¹. This contrasts with the acceptable rate of between 5 and 15 t ha⁻¹ yr⁻¹ reported for soils of temperate regions (20). This paper reports on the relative soil-loss tolerance of some important agricultural soils in southern Nigeria, evaluated by four different methods.

MATERIALS AND METHODS

The location, vegetation, soils and climate of the study sites are shown in Table 1. The Ikenne and Ilora locations are in the southwest, while Nsukka and Onne are in the southeast of Nigeria. These sites cover the main rainfall zones, vegetation belts, soils

and geologic materials found in southern Nigeria. The Nsukka I site (Inceptisol) occupies the summit while Nsukka II (Ultisol) occupies the valley bottom of a toposequence.

Soil chemical analyses

Three profile pits were dug at each of the Onne, Ikenne and Ilora sites while two profile pits were dug at each site in the Nsukka location. Soil samples were taken from each of the profiles at intervals of 10 cm up to the 50 cm depth and then at 50 - 70 cm and 70 - 100 cm depths. All samples from the same depth in the same location were composited, air-dried at room temperature, sieved through a 2 mm mesh and the fine-earth fractions used for the chemical analyses. Total nitrogen was analyzed by the Kjeldahl digestion method, organic carbon by dichromate oxidation, available phosphorus by the Bray-1 method, exchangeable Ca, Mg, and K by the 1N NH₄-acetate extraction, KCl-acidity (Al³⁺ + H⁺) by titration with

Table 1. The physical environment of the study sites.

Parameter	Nsukka I	Nsukka II	Onne	Ikenne	Ilora
Latitude	06° 52' N	06° 52' N	04° 51' N	06° 52' N	07° 50' N
Longitude	07° 24' E	07° 24' E	07° 01' NE	03° 43' E	03° 58' E
Elevation (m)	400	400	near sea level	60	250
Texture of topsoil	Clay	Sand clay loam	Sandy loam	Sandy clay loam	Sandy clay loam
Vegetation	Derived savannah	Derived savannah	Superhumid forest	Humid forest	Derived savannah
Soil series	Uvuru	Nkpologu	Onne	Alagba	Fgbeda
Classification (soil taxonomy)	Lithic dystropepts	Oxic paleustults	Oxic paleudults	Oxic paleustults	Oxic paleustults
Parent material	Upper coal measures	Colluvium overlying false-bedded sandstones	Coastal sediments	Arañaceous sedimentary rocks	Basement complex rocks
Presence of gravel (> 2 mm) within 1 m depth	Yes	No	No	No	Yes
Rainfall (mm)	1 600	1 600	2 580	1 400	1 150
Mean solar radiation (GCal/cm ² /day)	265	265	307	387	424
Thickness of Ap horizon (cm)	32	10	9	30	8

0.05N NaOH and pH (in 1:2.5 soil/water suspension) potentiometrically. Effective cation exchange capacity (ECEC) was obtained by summation of NH_4OA C-exchangeable bases and the KCl-exchangeable acidity. These methods are described by Jackson (4).

Evaluation of relative soil-loss tolerance

The first method involved averaging the nutrient contents of the different horizons within each soil profile and ranking the soils on a scale of 1 to 5 (1 = least fertile, 5 = most fertile). The underlying assumption here is that the higher the fertility status the higher the potential of the soil to tolerate soil loss.

The second method involved artificially removing a 0 - 5 cm soil sample in all locations and comparing their productivity with those of the undisturbed topsoils with or without addition of inorganic fertilisers. The indicator crop was maize (*Zea mays* L. var. TEPB) and nitrogen and phosphorus fertilisers, applied at the rates of 120 kg N/ha and 60 kg P/ha respectively, were the only nutrients used. The Nsukka and Onne soils with low pH were limed to a pH of about 6.0 before planting. Relative rather than absolute yield data computed as

$$Y_R = 100 (Y_i Y_o^{-1}) \quad (1)$$

were used for comparing the erosion tolerance of the soils so as to minimize the effects of the ecological differences of the locations on the yield of the test crop. In this equation, Y_R is per cent yield recovered, Y_i is grain yield on cut surface treatment and Y_o is grain yield on corresponding undisturbed topsoil treatment. The higher the Y_R the more tolerant the soil is to erosion.

In the third method, the productivity of the Ap and B horizons of the soils were compared in the greenhouse with and without inorganic fertilisers. The inorganic fertilisers were 60 ppm N, 15 ppm P, 20 ppm K and 20 ppm Mg, applied as solutions of ammonium sulphate, sodium dihydrogen phosphate, potassium sulphate and magnesium sulphate, respectively. The Onne and Nsukka soils were also limed to a pH of 6.0 before planting maize. The relative yield recovery was computed as the ratio of dry matter yield from the B horizon to that from the corresponding Ap horizon treatment.

The fourth method involved the use of Skidmore's (18) generalized equation which is a

modification of the Smith and Stamey (19) procedure. This relationship for defining soil-loss tolerance limits is a function of the present soil depth and rate of soil renewal and is given as,

$$T(x,y,t) = T_1 + (T_2 - T_1)/2 + [(T_2 - T_1)/2] \cos\{\pi + [(Z-Z_1)/Z_2-Z_1]\pi\} \quad (2)$$

where $T(x,y,t)$ is tolerable soil-loss rate at point (x,y) , and T_1 and T_2 are lower and upper limits of allowable soil-loss rate. T_1 is the soil renewal rate, Z_1 and Z_2 are minimum and optimum soil depths. Z is the present soil depth, that is the effective rooting depth. The estimated annual rate of new soil formation (T_1) for Ultisols in Africa is 0.011 - 0.045 mm (10, 15) and that of Alfisols is 0.07 mm (3). Soil-loss tolerance values obtained from this method depend on soil depth and do not consider the fertility status or productivity of the soil. They are used to develop broad soil conservation programmes.

RESULTS

Nutrient profiles

Generally there is a decrease in the concentrations of the nutrients with depth on all soils (Table 2). Most of the nutrients are concentrated in the 0 - 20 cm depth (which for these soils is the plough layer). Except the Ilora soil which had about 25 per cent of total carbon concentrated in the plough layer, the rest of the soils had between 40 and 50 per cent of their total carbon contents in this layer. For the other nutrients (total N, Bray-1 P, and CEC) their concentrations in the Ap horizon ranged from 36 - 52, 34 - 50 and 26 - 49 per cent respectively.

In terms of the average nutrient contents of the profiles, no one soil had a monopoly of all the nutrients or characteristics that indicate higher or lower fertility status. But when a ranking of the average profile values of the fertility parameters was established (as shown in Table 3), a fertility status order of Ilora > Ikenne > Nsukka I > Onne > Nsukka II was obtained.

Relative yield recovery

Both the greenhouse and field relative yield data are shown in Table 4. In the greenhouse the topsoil

Table 2. Profile characteristics of the soils.

Parameter	Location	Soil profile depth (cm)							Means
		0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-70	70-100	
Organic Carbon (%)	Nsukka I	4.20	3.81	2.80	1.93	1.08	0.98	0.73	2.22
	Nsukka II	0.88	0.82	0.72	0.66	0.39	0.27	0.20	0.50
	Onne	1.37	1.02	0.79	0.79	0.69	0.62	0.69	0.85
	Ikenne	1.27	1.12	0.93	0.98	0.92	0.62	0.69	0.93
	Ilorra	1.65	1.46	1.46	1.12	1.08	0.69	0.62	1.15
Total Nitrogen (%)	Nsukka I	44.10	34.29	25.20	20.27	10.80	9.03	6.79	21.50
x 10 ⁻²	Nsukka II	9.24	8.20	6.84	6.27	3.90	2.51	2.00	5.57
	Onne	13.10	8.40	8.11	10.01	6.90	6.90	6.29	8.53
Available Phosphorus (ppm)	Nsukka I	72.3	72.5	51.0	38.9	36.1	36.1	36.3	49.0
	Nsukka II	3.3	0.8	0.5	0.2	0.1	0.1	0.2	0.74
Exch Bases me/100 g soil	Onne	4.9	5.2	4.0	3.8	4.0	4.2	4.6	4.40
	Ikenne	4.8	2.8	1.4	0.8	0.4	0.4	0.6	1.60
Effective CEC me/100 g soil	Ilorra	2.3	1.5	1.2	0.3	0.1	0.1	0.1	0.80
	Nsukka I	2.23	1.55	0.98	1.20	0.80	0.84	0.80	1.20
pH (1:2.5H ₂ O)	Nsukka II	2.18	0.81	0.77	0.55	0.53	0.76	0.26	0.84
	Onne	0.96	0.70	0.70	0.69	0.48	0.84	0.53	0.70
Total (Al + H) Acidity me/100 g soil	Ikenne	4.96	4.48	3.62	2.70	3.90	3.78	3.90	3.91
	Ilorra	16.27	4.93	4.81	4.68	4.80	4.28	2.58	6.05
Effective CEC me/100 g soil	Nsukka I	6.34	5.40	4.06	3.36	2.70	2.76	2.46	3.87
	Nsukka II	4.98	3.50	3.69	4.13	2.60	1.86	1.36	3.17
pH (1:2.5H ₂ O)	Onne	3.37	3.37	3.72	3.75	3.80	4.21	3.48	3.67
	Ikenne	5.52	4.91	4.05	3.06	4.41	4.19	4.32	4.35
Total (Al + H) Acidity me/100 g soil	Ilorra	16.67	5.32	5.22	5.21	5.29	4.57	3.03	6.47
	Nsukka I	4.4	4.3	4.6	4.7	5.0	5.0	5.0	4.7
pH (1:2.5H ₂ O)	Nsukka II	4.7	4.7	4.6	4.6	4.9	5.3	5.3	4.9
	Onne	4.3	4.6	5.0	5.0	5.0	5.1	5.3	4.9
Total (Al + H) Acidity me/100 g soil	Ikenne	6.1	6.2	6.2	5.9	6.1	6.0	6.2	6.1
	Ilorra	6.1	6.4	6.3	6.3	6.3	6.4	6.4	6.3
Total (Al + H) Acidity me/100 g soil	Nsukka I	4.40	4.10	3.60	2.70	2.19	2.21	1.86	3.00
	Nsukka II	3.80	3.79	3.41	3.80	2.20	1.40	1.40	2.83
Total (Al + H) Acidity me/100 g soil	Onne	2.28	2.56	2.92	2.96	3.22	3.26	2.84	2.86
	Ikenne	0.40	0.30	0.28	0.26	0.32	0.26	0.26	0.30
Total (Al + H) Acidity me/100 g soil	Ilorra	0.24	0.24	0.26	0.36	0.32	0.14	0.30	0.27

out-yielded the subsoil by a magnitude of 18 - 40 per cent on these soils. Similar results were reported in other parts of the tropics (1, 13, 14, 17). Generally the more fertile the soil, the higher the relative yield.

With the addition of fertiliser, however, the highest response came from the Nsukka II soil which had the lowest relative yield without any amendment. Fertilizer addition could not restore the productivity of

the Onne and Ikenne subsoils to those of the topsoil and only barely did so on the Nsukka I and Ilorra subsoils.

In the field, the magnitude of yield loss from treatments with the top 0 - 5 cm removed varied from 15 per cent (at Nsukka I) to 70 per cent (at Onne). Such a reduction in yield following artificial desurfacing of just a thin layer of the topsoil is not

uncommon on the shallow soils of West and Central Africa (5, 12, 16). The magnitude of yield reduction did not reflect the fertility status trend in Table 3.

Table 3. Ranking of the fertility status of the soil on a scale of 1 = least fertile to 5 = most fertile.

Parameter	Soils				
	Nsukka I	Nsukka II	Onne	Ikenne	Ilorra
Organic carbon	5	1	2	3	4
Total N	5	1	2	3	4
Bray-1 P	5	1	4	3	2
Total exch. bases	3	2	1	4	5
Effective CEC	3	1	2	4	5
pH	1	2.5	2.5	4	5
Exch. acidity	1	3	2	5	4
Average ranking	3.3	1.6	2.2	3.7	4.1

Final order: Ilorra > Ikenne > Nsukka I > Onne > Nsukka II

The addition of inorganic fertiliser more than restored the productivity of the exposed subsoils of Ikenne, Ilorra and Nsukka I to those of the undisturbed topsoil by a magnitude of 10, 28 and 38 per cent respectively. Those of Nsukka II and Onne could not

Table 4. Relative yield recovery (%) in the greenhouse and field with and without inorganic fertilizer amendment.

Location	Relative yield (%)			
	Greenhouse		Field	
	Without fertilizer	With fertilizer	Without fertilizer	With fertilizer
Nsukka I	82.3	104.2	85.0	138.2
Nsukka II	58.7	157.9	35.8	72.4
Onne	73.2	86.0	30.3	50.0
Ikenne	75.0	91.0	70.0	110.0
Ilorra	77.2	101.0	45.1	128.3

be fully restored. This trend reflects the fertility status of the soils. For the Ultisols (Nsukka II and Onne) subsoils it appears that higher doses of inorganic fertiliser than those used here may be needed to attain full restoration of productivity.

Soil-loss tolerance levels

The annual soil-loss tolerance levels of these soils are shown in Table 5. The weathering and soil formation rates of 0.013 mm for the Ultisols and 0.07 mm for the Alfisols and Inceptisols were assumed for these computations (3, 10). The trend in these values is that the Nsukka I and Ilorra soils (with gravelly restricting layers within the 10 - 20 cm depth) had low tolerance values while the others with no such restrictions had higher values. According to Lal (7, 9), decline in soil productivity occurs if soil erosion on these shallow soils exceeds these rates.

Table 5. Estimated soil-loss tolerance limits of some Nigerian soils.

Location	Effective rooting (cm)	Depth above restricting layer (cm)	Soil-loss tolerance (t/ha/yr.)
Nsukka I	10-15	10	0.75
Nsukka II	50-70	100	3.05
Onne	50-60	100	2.00
Ikenne	50-70	100	3.60
Ilorra	10-20	10	1.58

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

The results show that the order of soil-loss tolerance of these soils differs according to the assessment method employed. According to Wischmeier and Smith (20) the determination and assignment of absolute soil-loss tolerance values requires a multidisciplinary approach in which agronomists, geologists, soil scientists, and economists, among others, play important and complementary roles. Mannering (11) emphasised that this approach lacks any scientific base to predict rates of soil formation and effects of erosion on soil productivity.

In ecologically similar areas, the relative soil-loss tolerance of the main soil series serves to identify areas where even slight erosion may be disastrous to the residual soils in terms of productivity decline. Land users are then advised on the need to manage such soils in such a way as to achieve almost zero soil losses.

Since the methods used differed in their ordering of the soils with respect to soil-loss tolerance, this study has ranked these soils according to their relative soil-loss tolerance (using all the methods described above) on the scale mentioned. The average value of

the rankings for each soil represents its relative order. This is shown in Table 6 and indicates an order of tolerance of Nsukka I (Inceptisol) > Ikenne (Alfisol) > Ilora (Alfisol) > Nsukka II (Ultisol) > Onne (Ultisol). This order differs slightly from the ranking of the fertility status in Table 3 and suggests that the productivity of these soils has an overriding influence on their relative degree of tolerance to erosion, rather than their fertility status.

In conclusion, it must be pointed out that this approach gives only a first approximation order of soil-loss tolerance. In areas where soil maps with

Table 6. A soil-loss tolerance ranking of the five soil profiles (on a scale of 1 = least tolerant to 5 = most tolerant) by the various methods.

Methods	Soils				
	Nsukka I	Nsukka II	Onne	Ikenne	Ilora
a Yield recovery in field without fertilizer application	5	2	1	4	3
b Yield recovery in field with fertilizer application	5	2	1	3	4
c Relative yield in greenhouse without fertilizer application	5	1	2	3	4
d Relative yield in greenhouse with fertilizer application	4	5	1	2	3
e Soil depth and renewal rate	1	4	3	5	2
Average ranking	4.0	2.8	1.6	3.4	3.2

Final order: Nsukka I > Ikenne > Ilora > Nsukka II > Onne (Inceptisol) (Alfisol) (Alfisol) (Ultisol) (Ultisol)

delineations up to the series level exist, this approach can be used to obtain quick, fairly reliable results. However, its weakness is that it does not give absolute values or limits within which soil conservationists can advise farmers on the adoption of appropriate conservation programmes; and such limits take long periods of experimentation to establish. On the other hand, its strength is that it can be adopted even within relatively small watersheds with different soils to indicate areas where erosion can result in serious productivity decline, and therefore areas where more attention should be given to the implementation of conservation programmes.

LITERATURE CITED

1. AINA, P.O.; EGOLU, E. 1980. The effect of cattle feedlot manure and inorganic fertiliser on the improvement in subsoil productivity of Iwo soil. *Soil Science* 129:212-217.
2. BAUER, L.D. 1950. How serious is soil erosion? *Soil Science Society of America. Proceedings* 15:1-6.
3. BOULAD, A.O.; MULLER, J.P.; BOCOUIRE, G. 1977. Determination of the age and rate of alteration of a ferrallitic soil from Cameroon. *Science of Geology Bulletin* 30:175-178.

4. JACKSON, M.L. 1958. Soil chemical analysis. New Jersey, Prentice-Hall, Englewood Cliffs.
5. LAL, R. 1976. Soil erosion on Alfisols in Western Nigeria. V. The changes in physical properties and the response of crops. *Geoderma* 16:419-431.
6. LAL, R. 1980. Soil erosion as a constraint to crop production. In *Soil-related Constraints to Crop Production in the Tropics*. Los Baños, Philippines, IRRI. p. 405-423.
7. LAL, R. 1981. Soil erosion on Alfisols in Western Nigeria. VI. Effects of erosion on experimental plots. *Geoderma* 25:215-230.
8. LAL, R. 1983a. Soil erosion in the humid tropics with particular reference to agricultural land development and soil management. In *Symposium: Hydrology of Humid Tropical Regions with Particular Reference to the Hydrological Effects of Agriculture and Forestry Practice*. (Hamburg). Proceedings. International Association of Hydrological Science Publication. no. 140, p. 221-239.
9. LAL, R. 1983b. Soil erosion-productivity relationships for tropical soils. In *International Conference on Soil Erosion and Conservation (1983, Honolulu)*. p. 16-22.
10. LENEUF, N.; AUBERT, G. 1960. Attempts to measure the rate of ferrallisation. In *International Congress of Soil Science (7.)*. Transactions. v. 4, p. 225-228.
11. MANNERING, J.V. 1981. The use of soil loss tolerance as a strategy for soil conservation. In *Soil Conservation: Problems and Prospects*. R.P.C. Morgan (Ed.). New York, Wiley. p. 337-349.
12. MBAGWU, J.S.C.; LAL, R.; SCOTT, T.W. 1984. Effects of desurfacing of Alfisols and Ultisols in Southern Nigeria. I. Crop performance. *Soil Science Society of America Journal* 48:828-833.
13. MBAGWU, J.S.C. 1985. Subsoil productivity of an Ultisol in Nigeria as affected by organic wastes and inorganic fertiliser amendments. *Soil Science* 140:436-441.
14. MBAGWU, J.S.C.; LAL, R. 1985. Effect of bulk density and irrigation frequency on root growth and dry water yields of corn and cowpeas for three Nigerian topsoil and subsoil profiles. *Beitrage zur Tropischen Landwirtschaft und Veterinarmedizin* 23:277-285.
15. OWENS, L.B.; WATSON, J.P. 1979. Rates of weathering and soil formation on granite in Rhodesia. *Soil Science Society of America Journal* 43:160-165.
16. REHN, S. 1978. Land development in the humid tropics. In *International Symposium für Agrar-Mechanisierung der Deutsche Landwirtschaft Gesellschaft*. Frankfurt. p. 18-22.
17. RITCHEY, K.D.; FOX, R.H. 1974. Limitations to productivity of some Ultisol and Oxisol subsoils. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico* 58:197-210.
18. SKIDMORE, E.L. 1979. Soil loss tolerance. In *American Society of Agronomy Meeting (1979, Fort Collins, Colorado)*. Paper.
19. SMITH, R.W.; STAMEY, W.L. 1965. Determining the range of tolerance to erosion. *Soil Science* 100:414-424.
20. WISCHMEIER, W.H.; SMITH, D.D. 1978. Predicting rainfall erosion losses: A guide to conservation planning. Washington, D.C., United States Department of Agriculture. *Agricultural Handbook* no. 537.

Mineral Deficiencies of Forest Trees in Yucatan (Mexico) and Consequences for Land-Use¹

W. Zech*, P. Drechsel**, B. Neugebauer***

ABSTRACT

On calcareous shallow, stony soils derived from tertiary limestone in the Yucatan peninsula (Mexico), forest trees develop deficiency symptoms such as reduced growth, loss of leaves, dieback of shoots and different patterns of chlorosis. Detailed observations combined with foliar analysis allow a first diagnosis, as shown by some of the nutrient concentrations found in leaves of deficient trees which are supposed to be below the critical level for adequate nutrient supply. *Leucaena leucocephala*: 0.10% P, 9 ppm Mn; *Brosimum alicastrum*: 1.44% N, 0.06% P; *Gmelina arborea*: 8 ppm Zn; *Tectona grandis*: 24 ppm Mn, 0.13% P; *Manilkara zapotilla*: 10 ppm Mn; *Pinus caribaea*: 20 ppm Mn; *Swietenia macrophylla*: 1.00% N, 0.06 - 0.08% P, 13 ppm Mn. Specific difficulties in smallholder land-use and reforestation may be attributed to these deficiencies and could be overcome by diversified management techniques based on traditional agroforestry practices. Under large-scale forest management conditions, however, soil evaluation and tree species selection should be considered a major point of emphasis.

COMPENDIO

En suelos calcáreos pedregosos, derivados de caliza terciaria en la península de Yucatán, los árboles forestales desarrollan síntomas de deficiencia como crecimiento reducido, pérdida de hojas, marchitamiento de retoños y distintas formas de clorosis. Observaciones precisas combinadas con el análisis de hojas permiten establecer un primer diagnóstico. Así algunas de las concentraciones en nutrimentos, encontradas en hojas de árboles en estado achacoso, están supuestamente bajo su nivel crítico de sustento adecuado: *Leucaena leucocephala* 0.10%, 9 ppm Mn; *Brosimum alicastrum*, 1.44% N, 0.06% P; *Gmelina arborea*, 8 ppm Zn; *Tectona grandis*, 24 ppm Mn, 0.13% P; *Manilkara zapotilla*, 10 ppm Mn; *Pinus caribaea* 20 ppm Mn; *Swietenia macrophylla* 1.00 N, 0.06 - 0.08% P, 13 ppm Mn. Dificultades específicas de la explotación campesina y la reforestación podrían estar asociadas a esos problemas. Se vencería esas dificultades con técnicas distintas, basadas en prácticas agroforestales tradicionales. De todos modos se debería tomar en consideración, en el caso de plantaciones grandes de árboles, la evaluación de suelos y la mejor selección de las especies.

¹ Received for publication 3 February 1989.

The study was carried out during a GTZ evaluation mission. We are indebted to the State Secretariat for Forestry and Fauna of the Mexican Ministry of Agriculture for generously supporting our work and to G. Russner and R. Blasek for analysing the soil and leaf samples.

* Professor and Director of the Institute of Soil Science and Soil Geography, University of Bayreuth, P.O. Box 101251, D-8580 Bayreuth, FRG.

** Forest Ecologist, Institute of Soil Science and Soil Geography, University of Bayreuth.

*** Former GTZ expert in the project on land-use planning in Yucatan, present address: Pfisterhof, Burg am Wald, D-7815 Kirchzarten, FRG.

INTRODUCTION

Forest plantations are often established on marginal sites unsuitable for an efficient continued crop production. This may result in reduced vitality and yields or even in a partial breakdown of the plantation. Mineral deficiency symptoms allow foresters to recognize and prevent such tendencies. The present study seeks to point out such limitations in mineral supply in central Yucatan. Foliar analysis is used for their identification. The results are discussed in terms of adapted land-use management.

MATERIALS AND METHODS

Site description

Field studies were carried out in the central and southeastern part of the Yucatan peninsula (Fig. 1), a semi-humid tropical area with an average precipitation between 1000 mm and 1400 mm, and a rainy season extending from May to November. Tertiary limestones form the main parent material. Distinct catenas have developed as a result of intensive land use and erosion, dating back to the Mayan period (about 1000 B.C. - 1200 A.D.). Rendzic Leptosols dominate on hills and upper slopes whereas grey and brown-to-red Eutric Vertisols occur at the bottom. A wide variety of intermediate forms, partly with weakly developed cambic horizons cover the lower slopes. Table 1 details soil properties of such a typical catena near Oxkutzcab.

The soils in slope positions have a high stone content and a pore volume of more than 60 per cent; pH(CaCl₂) values of the A horizon are 7.5 - 7.7. Also

CEC (44 meq x 100⁻¹ g soil) and base saturation (100%) are high. Vertisols at the bottom of slopes have more than 70 per cent clay in the subsoil and porosity ranges between 56 and 66 per cent. Only in the A horizon is pH above 7, whereas in the subsoil horizons pH values between 5.3 and 5.8 have been determined. The field capacity (60 - 15 000 hPa) of all soils in low (4.5 - 8.9 Vol%). X-ray diffraction

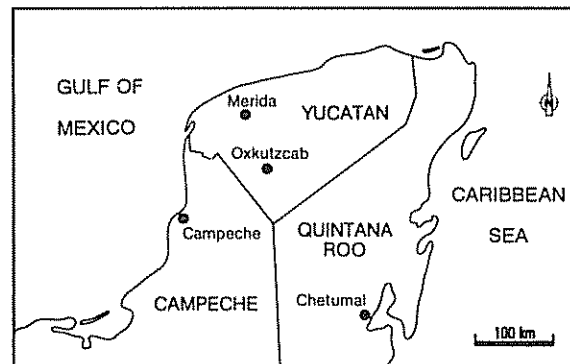


Fig. 1. The Peninsula of Yucatan showing the two sites under study near Oxkutzcab and Avetumal.

Table 1. Properties of a representative soil catena near Oxkutzcab.

Relief. inclination	Profile No.	Horizon depth (cm)	Soil description	Stoniness (%)	Texture (%)			Hydraulical conductivity k _f (cm sec ⁻¹)	Bulk density (g cm ⁻³)	Pore volume (%)
					Sand	Silt	Clay			
upper slope 4° N	Rendzic Leptosol 3	Ah 0-15	black, crumby loose structure, many fine roots	60	7	44	49	7.1 x 10 ⁻⁴	0.93	63
		AhCv 15-45	grey black, (sub-) angular, loose, may fine roots, limestone	90	16	46	38	n.d.	n.d.	n.d.
lower slope 2° N	Calcaric Phaeozems 2	Ah 0-25	black, crumby loose structure, many fine roots	30	13	46	41	6.2 x 10 ⁻⁴	0.91	64
		BCv 25-75	reddish white, crumby loose structure, only few fine roots, partly hard limestone	75	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
bottom 0°	Eutric Vertisol 1	Ah 0-15	dark grey, angular blocky, dense structure, many fine roots, some small limestone fragments	tr.	3	39	58	5.3 x 10 ⁻⁴	0.85	66
		AB 15-32	reddish black, blocky structure, stress cutans, cracks, some fine roots	tr.	2	25	73	4.7 x 10 ⁻⁴	1.06	60
		B 32-75+	brown-red, blocky dense structure, stress cutans, cracks, some fine roots	tr.	2	22	76	3.1 x 10 ⁻⁴	1.16	56

Continuation Table 1. Properties of a representative soil catena near Oxkutzcab.

Reflex. inclination	Profile No.	Horizon Depth (cm)	Soil description	Field capacity Vol %	pH CaCl ₂	Corg %	Nt %	CEC meq 100 g ⁻¹	Base saturation %
upper slope 4° N	Rendzic Leptosol 3	Ah 0-15	black, crumby loose structure, many fine roots	7.4	7.46	3.14	0.47	44.4	100
		AhCv 15-45	grey black, (sub-) angular, loose, many fine roots, limestone	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
lower slope 2° N	Calcaric Phaeozems 2	Ah 0-25	black, crumby loose structure, many fine roots	7.7	7.73	2.03	0.30	44.1	100
		BCv 25-75	reddish white, crumby loose structure, only few fine roots, partly hard limestone	n.d.	7.61	0.71	0.08	22.9	100
bottom 0°	Eutric Vertisol 1	Ah 0-15	dark grey, angular blocky, dense structure, many fine roots, some small limestone fragments	8.9	7.10	2.75	0.24	36.4	98
		AB 15-32	reddish black, blocky structure, stress cutans, cracks, some fine roots	6.1	5.79	1.27	0.13	25.6	72
		B 32-75+	brown-red, blocky dense structure, stress cutans, cracks, some fine roots	4.5	5.35	0.67	0.09	23.7	68
n.d. : not determined			tr : traces						

(XRD) analysis shows a dominance of kaolinite in all soils (Fig. 2). The broad peaks near 14 Å in soil 2, which expand to 18 Å after glycerol treatment, are probably due to vermiculite-smectite clay mineral of low crystallization.

Most of the trees under study are growing on shallow Rendzic Leptosols. These marginal sites are widespread all over the peninsula and as they are inappropriate for any conventional agriculture, are often reforested.

To date there are two types of tree planting with promising prospects: a commune-orientated programme of forest management based on natural regeneration and supportive planting, particularly in the southeastern part of the peninsula; and individual, small-scale reforestation and establishment of traditional tree gardens in the central area of Yucatan. Our sample plots near Chetumal and Oxkutzcab (Fig. 1) belong to both of these areas. Typical trees are the

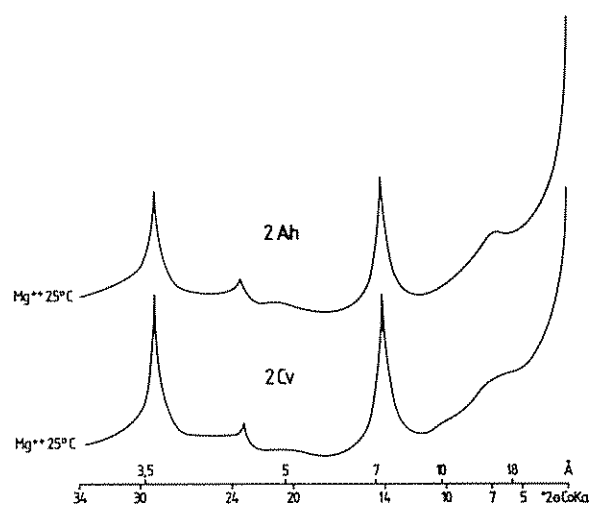


Fig. 2. Results of X-ray diffraction analysis demonstrated by an example of soil 2.

native *Brosimum alicastrum*, *Leucaena leucocephala*, *Pinus caribaea* or *Swietenia macrophylla*, as well as the exotic *Gmelina arborea* and *Tectona grandis*. In family gardens fodder (*Brosimum*, *Leucaena*) and fruit-bearing trees (mango, avocado, coco, and citrus) are preferred by farmers.

Foliar sampling, chemical and physical analyses

Leaf samples were taken at the end of May from the upper part of the crown of five to ten trees. As usual, the first mature leaves below the tip of branchlets were collected. After drying (65°C), samples were mixed and ashed (550°C). Two grammes of ashed tissue was dissolved in 50 ml 10% HCl, brought to 100 ml and K, Ca, Mg, Al, Fe, Mn, Cu, Zn were measured directly with atomic absorption. N was determined after Kjeldahl with Büchi apparatus No. 320, P and B colorimetrically with molybdenum blue and 1,1-dianthrimide, respectively. Clay mineral in soil samples were analysed using XRD and Cok α -radiation. Physical properties were analysed according to Hartge (6), and texture with an areometer (8). For soil chemical properties see Zech (18). Soils were classified according to FAO (4).

RESULTS AND DISCUSSION

Table 2 provides the results of foliar analyses. On eight species of trees (14 samples) foliar levels for optimal growth and critical levels for the appearance of visual deficiency symptoms are only little known for most deciduous tropical tree species (17), our interpretation is somewhat tentative. But the detailed study of symptoms, combined with a careful interpretation of the foliar data and site properties, should give reliable results and a first clue to further investigations.

Near Oxlutzcab, *L. leucocephala* (Table 2, sample 1) planted on soils with a pronounced calcic horizon of 25 cm depth and pH values (CaCl₂) of 7.73 in the surface layer, show dull green, small leaves. The crowns are narrow and only few leaves are retained. Trees suffer from leader dieback. According to Table 2, foliar phosphorus is very low (0.10%). On the same site *Leucaena* also suffers from chlorosis of the younger leaves at the end of the shoots. Some leaves are completely yellow, others reveal interveinal chlorosis. Foliar analysis indicates

primary lack of manganese. Mn levels are only 9 ppm, whereas in sample 1 with green leaves, 28 ppm were recorded. In Middle Europe tree species are supposed to suffer from manganese deficiency when leaf concentrations are below 20 ppm (7, 13, 14). In addition, sample 2 has only 1.98% foliar nitrogen. Problems relating to B nutrition could not be verified. According to these results, *Leucaena*, which is supposed to be well adapted on alkaline and neutral soils, does not grow vigorously on these shallow soils. We assume that P and Mn nutrition are inadequate. Chlorosis and loss of foliage also seems to be enhanced by water stress. Another tree species native to Yucatan is *B. alicastrum* ("ramón"). In northeastern Mexico pure stands occur on steep slopes and calcareous soils. Studies have revealed that this multipurpose tree was already widely used and cultivated by the Maya (11). In green leaves we analysed 0.08 - 0.15% P (Table 2, samples 3 - 5), the lower values are typical for the poorly growing two-year-old individuals (Table 2, sample 4). However, they show no chlorosis, despite the fact that only 9 ppm foliar Zn and 0.08% foliar P could be found. But the ten-year-old and approximately 6 m high trees (Table 2, sample 6), develop chlorotic leaves, especially in the lower part of the crown. We believe that these trees suffer from N and P deficiencies because only 1.44% N and 0.06% P could be found in their leaves. Additionally, the K/Ca ratio is only 0.27 which seems far too narrow.

Leucaena and *Brosimum* are valuable trees for agroforestry systems. Usually, *Leucaena* is known for its raw protein-rich fodder, higher growth rate and high biomass production. According to our observations near Oxlutzcab, *Brosimum* seems superior on stony shallow sites, probably due to its widely reported drought tolerance (9). The foliage is highly appreciated by animals and its digestibility is superior to that of *L. leucocephala* (11). Due to its evergreen status, it is often the principal fodder for livestock during drier months. The wood is used for furniture and fuel.

With regard to crude protein (cp) and digestible crude protein (dcp), values between 15.2 per cent (10.1) and 24.2 per cent (18.5) (dry matter) indicate that healthy trees of both species can be a source of high quality fodder (12). On the other hand, the demands of cows are not always covered for P, Mn and mainly Zn because foliar levels are often below the critical values (12) of 0.12% P, 50 - 60 ppm Mn

and 30 - 60 ppm Zn. Also the Ca/P ratios, which should lie between 1.0 and 1.7 for tropical livestock, are too high (14 - 53) (1). Nevertheless, this foliage is a very valuable supplementary fodder.

Like *Gmelina*, *T. grandis* (teak) prefers fertile soils. This tree is not susceptible to lime-induced chlorosis. However, on shallow stony soils with calcic horizons near Oxkutzcab, teak grows slowly, perhaps due to low N and P supplies (1.63% foliar N, 0.13% foliar P) but we cannot exclude that the shallowness of the soil with a field capacity of only 7.2 Vol% is

responsible for bad growth. Foliar levels for Mn and Zn are also low (24 ppm Mn, 14 ppm Zn; Table 2, sample 9), but apparently not below the critical range.

No deficiency symptoms were observed on small groups of *Anacardium occidentale* (cashew) growing on red clay soils at the bottom of the slopes. In the mature leaves, only 0.08% P and 0.34% K were found (Table 2, sample 14). This corresponds with our results in West Africa, where cashew reveals P and K deficiencies only when foliar levels are below 0.06% P and 0.30% K, respectively (15, 16).

Table 2. Results of foliar analyses (Oxkutzcab).

Species	No of mixed sample	Description (years old/height) vitality	N	P	K	Ca	Mg	Al	Fe	Mn	Cu	Zn	B
			% (oven-dry weight)						ppm				
<i>Leucaena leucocephala</i>	1	(4/4-6 m) leader dieback, dull green leaves, few small leaves retained	3.87	0.10	1.10	1.96	0.37	53	94	28	8	16	32
	2	(4/1-2 m) severe dieback, few leaves retained, in addition, chlorosis of younger leaves	1.98	0.15	1.39	2.67	0.49	146	98	9	6	19	35
<i>Brosimum alacastrum</i>	3	(3/3-4 m) no deficiency symptoms	2.43	0.15	1.35	2.08	0.48	41	129	29	11	16	24
	4	(2/2.5-3.5 m) no deficiency symptoms	2.27	0.13	1.16	1.93	0.31	22	82	99	6	9	19
	5	(2/2 m) no further symptoms	2.30	0.08	1.20	2.45	0.36	21	63	89	10	9	36
	6	(10/6 m) chlorotic leaves, especially in lower parts of the crown	1.44	0.06	0.87	3.20	0.42	21	39	41	6	19	21
<i>Gmelina arborea</i>	7	(3/4 m) intercostal chlorosis, mainly in lower parts of the crown, fertilized with compost	2.91	0.19	0.99	1.65	0.23	99	79	113	19	8	34
	8	(3/4 m) no symptoms	2.50	0.14	0.76	2.20	0.40	68	88	115	17	15	25
<i>Tectona grandis</i>	9	(2/2-3 m) branch growth reduced, only few green leaves retained	1.63	0.13	1.15	1.29	0.13	63	72	24	10	14	30
<i>Manilkara zapota</i>	10	(1/4-5 m) chlorosis of younger leaves, partially only intercostal chlorosis	1.97	0.16	1.96	1.60	0.17	53	27	10	9	17	37
<i>Pinus caribaea</i>	11	(3/2 m) needles completely yellow or short, yellow-tipped needles on the end of the branches	0.83	0.06	1.00	0.46	0.16	58	34	20	2	16	21
<i>Swietenia macrophylla</i>	12	(2/1.5 m) all leaves chlorotic, especially the younger ones	1.00	0.06	0.96	1.61	0.13	51	68	13	13	13	25
	13	(2/1-1.5 m) leaves yellowish-green	1.48	0.08	0.98	2.12	0.13	25	53	37	13	10	30
<i>Anacardium occidentale</i>	14	(1/5-7 m) no deficiency symptoms, growing on red clay soils in bottoms	1.55	0.08	0.34	0.55	0.26	39	53	58	7	16	17

Near Chetumal, on shallow Rendzic Leptosols derived from soft marls, many trees develop lime-induced chlorosis. This phenomenon is generally correlated with low foliar Mn. For example *M. zapotilla* ("níspero") growing in the experimental garden of the forest research station shows interveinal chlorosis or even yellowing of the whole leaves. They contain only 10 ppm Mn (Table 2, sample 10). *Manilkara* is most productive near the coast and dislikes clays (3). The wood is suitable for several purposes and the fruit is highly prized and considered one of the best in Central America (3).

On similar sites young *P. caribaea* trees are completely yellow or have short yellow-tipped needles at the end of the branches. These symptoms are probably induced by very low P (0.06%) and Cu (2 ppm) as well as by low N (0.83%) and Mn (20 ppm) foliar concentrations (sample 11).

S. macrophylla, growing near Chetumal, also suffers from N, P and Mn deficiencies. The corresponding foliar levels are 1.00% N, 0.06 - 0.08% P and 13 ppm Mn. Zn levels of 10 ppm may also be insufficient (samples 12, 13).

CONCLUSIONS

These soils are generally difficult substrates for the establishment of most forest trees. High pH reduces availability of nutrients and high stoniness diminishes nutrient reserves and water-holding capacity. Nevertheless, the observed widespread mineral deficiencies are surprising, because most of the trees under study are native to Yucatan and adapted to calcareous soils. This phenomenon might have resulted from environmental changes due to adverse land-use practices. The common form of agriculture is shifting cultivation (milpa) with two to four years of maize followed by forest fallow. Shortened fallow periods have led to incomplete regeneration of soil fertility, especially of the P status of the soils (18), and progressive loss of natural forests has provoked erosion. Such a self-destructive system could have been a reason why the Mayan culture shifted gradually from the center of the Yucatan peninsula towards the ocean (5).

At the beginning of the twentieth century farmers of Oxkutzcab developed the conuco-system, an improved milpa system with smaller fields, multiple

cropping and crop rotation. Later they planted fruit-bearing and fodder trees and established permanent systems on parts of their land. Tree gardens such as this are traditionally known as part of Mayan land-use.

The successful management of the cocuno-system is based on careful site evaluation, the avoidance of unsuitable soils and site-adapted species selection. The coexistence of tree garden and crop production prevents financial loss during the first years of tree growth.

As favourable soils for tree or family gardens are now scanty, trees are planted on sites where the foregoing crop production is already declining. The need for integrated strategies is therefore increasing, in view of stable land-use systems based on the experiences of the cocuno-system (10). The aim is to reanimate traditional techniques of ecological land-use, e.g. the production of compost which improves soil fertility and water holding capacity. In Yucatan *Canavalia ensiformis*, intercropped with maize, produced about 1 t of compost/600 m². As shown (sample 7), some foliar nutrient levels of compost-fertilized *Gmelina* increased markedly. But as long as commercial fertilizers are not appropriate for smallholder conditions, it will probably be difficult to prevent induced micronutrient deficiencies. On the other hand, these may disappear after canopy closing, as no deficiency symptoms were observed in mature secondary forests nearby with lower topsoil pH.

Communal afforestation programmes should start with site evaluation and tree species trials before establishing large-scale plantations. The use of different species reduces risks of yield damage. Native species should be selected, especially for fodder and fuelwood production. In Yucatan, established plantations of *B. alicastrum* are already producing twice as much forage (three cuttings per year) as pastures (11).

LITERATURE CITED

1. BOUDET, G. 1978. Manual sur les pâturages tropicaux et les cultures fourragères. IEMVT. Etude Agrostologique no. 4.

2. EVANS, I. 1979. The effects of leaf position and leaf age in foliar analysis of *Gmelina arborea*. *Plant and Soil* 52:547-552.
3. FAO. 1982. Fruit-bearing forest trees: Technical notes. Rome, FAO Forestry Paper 34.
4. FAO. 1985. Soil map of the world: Revised legend. Rome.
5. GOUROU, P. 1961. The tropical world. New York.
6. HARTGE, K.H. 1971. Die physikalische Untersuchung von Böden. Enke Verlag Stuttgart.
7. INGESTAND, T. 1958. Studies on manganese deficiency in a forest stand. *Medd. Status Skogsforskings Institut* 48(4):4-20.
8. LEENHEER, L. DE ; RUYMBEKE, M.V.; MAES, L. 1955. Die Kettenaräometer-Methode für die mechanische Bodenanalyse. *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenk.* 68:10-19.
9. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. 1976. Under-exploited tropical plants with promising economic value. Washington, D.C.
10. NEUGEBAUER, B. 1986. Der Wandel kleinbäuerlicher Landnutzung in Oaxaca-Yucatan: Ein Beitrag zur Entwicklung sozial und Ökologisch angemessener land- und forstwirtschaftlicher Methoden in den feuchten Tropen Mexikos. Univ. Freiburg.
11. PEIERS, C.M.; PARDO-TEJEDA, E. 1982. *Brosimum alicastrum* (Moraceae): Uses and potential in Mexico. *Economic Botany* 36(2):166-175.
12. RIVIERE, R. 1977. Manual d'alimentation des ruminants domestiques en milieu tropical. IEMVT. Etude Agrostologique no. 9.
13. STONE, E.L. 1968. Microelement nutrition of forest trees: A review. In *Forest Fertilization, Theory and Practice*. Mussel Shoals, Ala., USA, Tennessee Valley Authority National Fertilizer Development Center.
14. ZECH, W. 1968. Kalkhaltige Böden als Nährsubstrat für Koniferen. Ph.D Thesis. Forest Faculty University of Munich.
15. ZECH, W. 1984. Etudes sur l'écologie de ligneux d'intérêt forestier dans l'Afrique de l'Ouest semi-aride. *GTZ, Eschborn, FRG. Schriftenreihe der GTZ* no. 154.
16. ZECH, W. 1984. Untersuchungen über Kalium- und Zinkmangel in Pflanzungen von *Gmelina arborea*, *Azadirachta indica* und *Anacardium occidentale* in semiariden Gebieten von Westafrika. *Kali-Briefe, Fachgebiet 22, 31(1):1-5*.
17. ZECH, W.; DRECHSEL, P. 1990. Foliar analyses of broad-leaved tropical trees: A tabular review. *Plant and Soil* (In press).
18. ZECH, W.; ALT, H.G.; ZUCKER, A.; KÖGEL, I. 1985. ³¹P-NMR- spectroscopic investigations of NaOH-extracts from soils with different land use in Yucatan. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 148:626-632.

Control del Picudo de la Caña de Azúcar *Sphenophorus levis* Vaurie (Col.: Curculionidae) con *Beauveria bassiana* y *Beauveria brogniartii* en Condiciones de Laboratorio y Campo¹

F.F. Badilla*, S.B. Alves*

ABSTRACT

This research was conducted to determine dosages, select isolates of *Beauveria bassiana* and *B. brogniartii*, and develop a methodology for control of *Sphenophorus levis*. Four dosages of *B. bassiana* (Bals.) Vuill. isolate 447 were tested. For the bioassay, the adult insects were placed together in a 500 ml flask, the dosage of pathogen spores was added and the mixture agitated for two minutes. The insects were then removed and maintained in chambers with a constant temperature of $26.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and 12 hours photophase. It was determined that the lethal dose (LD_{50}) was 8.8×10^7 conidia/flask. However, a dosage of 8.0×10^{11} conidia/flask was used for other bioassays to select the best isolates. Using this methodology seven isolates of *Beauveria* spp. were evaluated. The selection of isolates was carried out using the following parameters: percent mortality, number of conidia produced per insect, lethal time (LT_{50}) and relative potential to kill the host. The isolates of *B. bassiana* 447 were selected for field testing. Under these conditions a dosage of 4.9×10^{11} conidia per piece of treated sugarcane (25 cm in length) yielded 92.3% of *S. levis* adult mortality.

INTRODUCCION

El cultivo de la caña de azúcar es afectado por varias especies de plagas, lo que constituye uno de los factores más importantes en la disminución de su productividad.

¹ Recibido para publicación el 17 de abril de 1990. Parte de la Tesis de Maestría en Entomología presentada por el primer autor a la Escuela Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidad de São Paulo, Brasil.

* Dirección de Investigación y Extensión de Caña de Azúcar, Apartado 2330-1000 San José, Costa Rica.

** Departamento de Entomología de la ESALQ/USP, 13400 Piracicaba, SP, Brasil.

COMPENDIO

Este trabajo tuvo como objetivo determinar la dosis y seleccionar aislamientos de *Beauveria bassiana* y *B. brogniartii*, así como desarrollar una metodología para el control de *Sphenophorus levis*, Vaurie. Fueron evaluadas cuatro dosis del aislamiento 447 de *B. bassiana* (Bals.) Vuill. Para la realización de este bioensayo, los insectos adultos fueron colocados junto con cada una de las dosis del patógeno en un frasco de vidrio de 500 ml y agitados por dos minutos; posteriormente fueron retirados y mantenidos en una estufa incubadora, con temperatura constante de $26 \pm 0.5^\circ\text{C}$ y fotofase de 12 horas. Se determinó la dosis letal (DL_{50}) de 8.8×10^7 conidios/frasco. Utilizando esta dosis y esta metodología, fueron evaluados siete aislamientos de *Beauveria* spp. La selección de los aislamientos fue hecha usando las siguientes variables: porcentaje de mortalidad, número de conidios producidos por insecto, tiempo letal TL_{50} y potencia relativa para matar el hospedero. El aislamiento 447 de *B. bassiana* fue seleccionado para los ensayos de campo. En estas condiciones la dosis de 4.9×10^{11} conidios por pedazo de caña de azúcar tratado (25 cm de largo), se obtuvo un 92.3% de mortalidad en los adultos de *S. levis*.

En el Estado de San Pablo, Brasil el picudo *S. levis* causa graves perjuicios. Las larvas abren galerías en los rizomas, originando síntomas de amarillamiento y secado de hojas e hijos nuevos. El daño se refleja en el número de hijos finales para la cosecha, y las pérdidas económicas pueden ser estimadas en relación con la reducción del número de toneladas de caña por hectárea. Así, en algunas localidades se han detectado entre 50% y 60% de los hijos atacados, lo que ocasiona reducciones de 20 a 30 t/ha (10).

Para el control de esta plaga fueron probados los métodos químico, mecánico, cultural y de resistencia

de plantas, los que resultaron ineficientes. El uso de cebos y la destrucción de socas son los únicos que han mostrado alguna eficiencia en el control. El uso generalizado de insecticidas no constituye una medida recomendable, ya que las larvas tienen como hábito cavar galerías en el tallo o rizomas, por lo que quedan protegidas, y el control resulta ineficiente y antieconómico.

La utilización de *Beauveria* spp. en el control de curculiónidos ha sido estudiada por varios investigadores (3, 4, 9).

Algunos trabajos realizados en el laboratorio con *S. levis*, utilizando el hongo *B. bassiana* (3, 14), presentaron alguna eficiencia. De manera que es indispensable realizar estudios sobre el comportamiento de los aislamientos, dosis y estrategias de control a nivel de campo.

Con el fin de obtener mayor información sobre el control microbiano de esta plaga, el presente trabajo procuró seleccionar las dosis y los aislamientos de *Beauveria* spp. más eficientes para el control de *S. levis*, así como desarrollar una metodología para el control de curculiónidos en caña de azúcar.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de Patología de Insectos del Departamento de Entomología de la Escuela Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", de la Universidad de San Pablo (ESALQ/USP) en Piracicaba, SP, y en la Hacienda Santa Elena en Piracicaba, SP, Brasil.

Fueron utilizados adultos de *S. levis* machos y hembras de distintas edades, procedentes de campos de caña de azúcar de la Hacienda Santa Elena. Los

aislamientos de *Beauveria* spp. fueron obtenidos en el banco de patógenos del Departamento de Entomología de la ESALQ/USP. Las especies, procedencias y hospederos originales se encuentran en el Cuadro 1.

Experimento 1. Determinación del tiempo letal medio (TL₅₀), dosis letal media (DL₅₀) y porcentaje de mortalidad de *S. levis* con *B. bassiana* aislamiento 447.

Se determinó la patogenicidad del aislamiento 447 de *B. bassiana* en adultos de *S. levis* en las dosis de 8.0×10^{11} , 8.0×10^{10} , 8.0×10^9 , 8.0×10^8 , conidios por balón de vidrio de 500 ml. Cada parcela del tratamiento constó de 18 insectos con cinco repeticiones, para un total de 90 insectos por dosis. Los insectos fueron colocados en balones de vidrio de 500 ml, en contacto con la masa fúngica de cada una de las dosis y, posteriormente, agitados durante dos minutos. Después de la inoculación fueron individualizados en cajas de poliestireno cristal, divididas en seis partes de 3.5 cm de diámetro cada una con papel filtro humedecido, las cuales fueron mantenidas en incubadoras reguladas a una temperatura de $26 \pm 0.5^\circ\text{C}$ y fotofase de 12 horas. Los insectos fueron alimentados con pedazos de caña de azúcar, los cuales eran cambiados tres veces por semana. Las observaciones de mortalidad se realizaron diariamente.

El diseño experimental fue irrestricto al azar, con cinco tratamientos, constituidos por un testigo y cuatro dosis del patógeno. También fue calculado el TL₅₀ usando el método de Próbites, a partir de los trabajos de Finney (8) y Sokal (13), en las diferentes dosis a que fue sometido el insecto. La determinación de las dosis fue realizada por medio de un hemocitómetro.

Para determinar la cantidad de conidios, que efectivamente permanecieron después de la inoculación

Cuadro 1. Relación de los aislamientos de *Beauveria* spp., procedencia y hospederos originales.

Aislamiento No.	Especie	Procedencia de los hongos	Hospedero original
290	<i>B. bassiana</i>	ENTO-ESALQ/USP	<i>Anthonomus grandis</i>
292	<i>B. bassiana</i>	ENTO-ESALQ/USP	<i>Anthonomus grandis</i>
447	<i>B. bassiana</i>	Cuiabá-MS	<i>Solenopsis invicta</i>
455	<i>B. bassiana</i>	Sta Tereza-ES	<i>Hypothenemus hampei</i>
476	<i>B. bassiana</i>	ENTO-ESALQ/USP	<i>Cosmopolites sordidus</i>
695	<i>B. brogniartii</i>	Londrina-PR	<i>Metamasius hemipterus</i>
704	<i>B. bassiana</i>	Cuiabá-MS	<i>Solenopsis sp</i>

en contacto con el tegumento del insecto, fueron colocados dos adultos, un macho y una hembra, en un tubo de vidrio con 10 ml de agua destilada más adherente. El tubo fue llevado a un agitador magnético durante tres minutos. En seguida fue realizado el conteo de conidios en suspensión, con el auxilio de un hemocitómetro.

Experimento 2. Patogenicidad y virulencia de diferentes aislamientos de *Beauveria* spp.

Para determinar la patogenicidad y virulencia de *Beauveria* spp. en los adultos de *S. levis*, fueron utilizados siete aislamientos, citados en el Cuadro 1, con sus respectivos hospederos originales. Para la inoculación de los insectos con los diferentes aislamientos fueron colocados 10 adultos por placa, con medio de cultivo y hongo esporulados, por espacio de dos minutos. El patógeno fue reaislado a partir de esos insectos en medio PDA, más antibiótico, e inoculados una vez en PDA-Y (papa-dextrosa-agar + levadura), con el objeto de producir inóculo para la multiplicación en arroz por el método de la bandeja (11).

La metodología de la aplicación, la determinación del tiempo letal medio (TL₅₀) y potencial de inóculo de los diferentes aislamientos fue semejante a la mencionada en el experimento anterior para el aislamiento 447. La dosis utilizada en los siete aislamientos fue de 8.0 x 10¹¹ conidios por balón de 500 mililitros. El diseño experimental fue irrestricto al azar, y constó de ocho tratamientos y tres repeticiones, correspondiendo a un testigo y siete aislamientos de *Beauveria* spp. Cada tratamiento estuvo constituido por 54 insectos y cada parcela por 12 insectos, de los cuales seis eran machos y seis hembras. En el análisis estadístico se utilizó un diseño irrestricto al azar con arreglo factorial 7 x 2, con cuatro repeticiones de 12 insectos, correspondiente a nueve machos y nueve hembras. Fue también determinada la Tasa de Potencia (TP) de los aislamientos mediante la fórmula (2):

$$TP = \frac{TL_{50} \text{ del aislamiento patrón}}{TL_{50} \text{ del aislamiento evaluado}} \times 1\ 000$$

y se fijó la Unidad Patrón de Potencia en 1 000 para *B. bassiana* aislamiento 447. La caracterización de cada uno de los aislamientos fue hecha con base en la determinación de las variables TL₅₀, TL₉₀, porcentaje de mortalidad y número de conidios por insecto.

Experimento 3. Eficiencia de *B. bassiana* aislamiento 447 sobre adultos de *S. levis*, aplicados en pedazos de caña de azúcar utilizados como cebo.

Este experimento fue efectuado después de la selección del aislamiento 447, en el experimento hecho en condiciones de laboratorio. El objetivo fue evaluar la eficiencia en el campo cuando fue aplicado sobre pedazos de caña de azúcar. Para eso fueron colocados en una bolsa plástica ocho trozos de caña de azúcar de 25 cm de largo y 2.5 cm de ancho, partidos longitudinalmente, y siete gramos de hongo con 3.9 x 10¹² de conidios. La masa fúngica y los trozos de caña fueron agitados manualmente, hasta que quedaran inoculados. Enseguida fueron colocados en las hileras del cañal, en pares, y cubiertos con hojas de caña. El mismo procedimiento fue utilizado para los pedazos de caña sin hongo (testigo). Se utilizó una dosis de 4.9 x 10¹¹ conidios por trozo, proporcionando una concentración de 7.7 x 10⁷ conidios por milímetro cuadrado. El diseño estadístico fue de bloques al azar en parcelas divididas. Los tratamientos fueron repetidos tres veces y estaban constituidos por seis trozos por muestra, con una distancia de 10 m en el mismo surco y 14 m entre surcos. Cada bloque estaba conformado por un área de 1870 m², y el área total del experimento era de 7000 m² aproximadamente.

El experimento fue realizado en la Hacienda Retiro, en los lotes E₄ y E₅ de la variedad de caña de azúcar SP 70-1143, con siete meses de edad, correspondiendo a cultivo de mínima labranza, el cual se encontraba en el tercer corte. Las evaluaciones fueron realizadas a los cuatro, ocho y 16 días después de la instalación del experimento. Para eso fueron recolectados 20 insectos por repetición, para un total de 60 por tratamiento. Los trozos donde fueron recolectados los insectos se marcaron, para no ser utilizados en la evaluación siguiente. Los insectos recolectados en los trozos de caña tratados, y en el testigo, fueron traídos al laboratorio, donde permanecieron con pedazos de caña durante cuatro días. Después de ese período fueron colocados individualmente en cajas plásticas (6 cm de diámetro x 2 cm de altura), con papel filtro humedecido, y una sección de tallo de caña de azúcar, el cual se cambió cada tres días.

Con el objeto de verificar la mortalidad, fue hecha una revisión diaria hasta los 35 días después de efec-

tuados los diferentes muestreos. La mortalidad confirmada fue corregida utilizando la fórmula de Abbott (1).

RESULTADOS Y DISCUSION

1. Determinación del tiempo letal medio (TL₅₀), dosis letal media (DL₅₀) y porcentaje de mortalidad de *S. levis* con *B. bassiana*, aislamiento 447.

Los datos de mortalidad para las diferentes dosis se encuentran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Porcentaje de mortalidad de adultos de *S. levis* por *B. bassiana*, aislamiento 447, después de 13 días de la inoculación. Temperatura: 26 ± 0.5°C; fotofase: 12 horas. Piracicaba, SP.

Tratamientos (dosis)	Porcentaje de mortalidad	
	Medias trasformadas	Media originales
8 x 10 ¹¹	76.54 a	94.58
8 x 10 ¹⁰	67.50 a	85.36
8 x 10 ⁹	41.95 b	44.70
8 x 10 ⁸	29.73 c	24.60
Testigo	0 d	0

$$t = 83.91^{**} \quad CV = 17.34\%$$

Resultados transformados en arco seno de raíz cuadrada de X. Medias seguidas de una misma letra, en una misma columna, no difieren entre sí según prueba de Duncan al nivel de 5% de probabilidad.

De acuerdo con estos resultados se observó que no hubo diferencia estadística entre las dosis 8 x 10¹¹ y 8 x 10¹⁰. Esto pudo haber ocurrido en función de que el potencial de inóculo resultante fue muy próximo (5.7 y 4.2 x 10⁷ conidios/adulto, respectivamente). Entre las dosis 8 x 10⁹ y 8 x 10⁸, hubo diferencia estadística al nivel de 5% según la prueba de Duncan. El potencial de inóculo aplicado por insecto en la dosis de 8 x 10⁹, en este caso, fue 8.9 veces mayor. También se observó que un aumento en la dosis proporcionó en todos los casos un incremento en la mortalidad. Resultados semejantes fueron obtenidos por Badilla y Alves (3) al trabajar con esa misma especie en un ensayo preliminar.

Transcurridos 13 días de la instalación del experimento se determinó una DL₅₀ de 8.8 x 10⁹ conidios (y = 1.8531 + 0.68914 Log X). Este valor puede ser considerado alto, aunque la cantidad de conidios que

permanecieron sobre el insecto, haya sido relativamente baja, en relación con la dosis aplicada. Estos resultados concuerdan con lo propuesto por Roberts y Yendol (12), los cuales mencionaron que valores de DL₅₀ incluyen también los conidios que no entran en contacto con el insecto en estudio.

Los resultados referentes a los TL₅₀ determinados para *S. levis*, sometidos a *B. bassiana* aislamiento 447, sus respectivos intervalos de confianza (IC), coeficientes lineales y angulares, se encuentran en el Cuadro 3. Por esos resultados se puede observar que hay una correlación negativa (r = -0.96*), entre las dosis y los TL₅₀, observando que a medida que se aumenta la concentración disminuye el número de días necesarios para matar un 50% de la población de adultos de *S. levis*.

Cuadro 3. Tiempos letales (TL₅₀) e intervalos de confianza (IC) obtenidos por el tratamiento de adultos de *S. levis* con el hongo *B. bassiana* aislamiento 447. Temperatura: 26 ± 0.5°C y fotofase: 12 horas. Piracicaba, SP.

No. de conidios por balón	TL ₅₀ (días)	IC* (días)	Coficiente lineal (a)	Coficiente angular (b)
8 x 10 ¹¹	4.1 a	3.4 - 4.9	2.66	3.82
8 x 10 ¹⁰	4.9 a	4.2 - 5.7	3.14	2.70
8 x 10 ⁹	14.2 b	11.2 - 18.1	1.47	3.01
8 x 10 ⁸	22.3 b	11.9 - 35.6	1.05	2.93

* Intervalo de confianza a nivel de 5% de probabilidad. Medias seguidas de la misma letra, en la misma columna, no difieren entre sí por los valores del IC al nivel del 5% de probabilidad.

Por los resultados obtenidos, se confirmó que la dosis de 8 x 10¹¹ conidios/balón fue la que ofreció las mejores características para el control de *S. levis*, ya que presentó la mayor mortalidad y el menor TL₅₀, aunque no haya diferido estadísticamente respecto a la dosis 8 x 10¹⁰ conidios por balón.

2. Patogenicidad de diferentes aislamientos de *Beauveria* spp.

Los datos de mortalidad de adultos del picudo de la caña de azúcar corregidos a través de la fórmula de Abbott (1) para los diferentes aislamientos, se encuentran en el Cuadro 4. Analizando las mortalidades, se observó que el aislamiento 447 presentó la mayor mortalidad (74.6%), y los aislamientos 292, 455 y

290 mostraron una mortalidad intermedia. Los aislamientos 476, 704 y 695 fueron los menos patogénicos. El menor porcentaje de mortalidad de los aislamientos 704 y 695 (36.1 y 34.4%), puede ser atribuido a la virulencia de los mismos y no al potencial de inóculo, ya que el aislamiento 695 de *B. brogniartii* presentó un potencial de inóculo de 9.5×10^8 conidios, prácticamente igual al aislamiento 447 (9.9×10^8 conidios), entre los que hubo una diferencia de 40.2% de mortalidad. Lo mismo ocurrió con el aislamiento 704 que proporcionó un potencial de inóculo de 11×10^8 conidios por insecto, causando una mortalidad de 36.9%, como se observa en el Cuadro 5.

Cuadro 4. Porcentaje de mortalidad acumulada de adultos de *S. levis* causada por los aislamientos de *Beauveria* spp. después de 17 días. Temperatura: $26 \pm 0.5^\circ\text{C}$; fotofase: 12 horas. Piracicaba, SP.

Aislamientos	Mortalidad (%)	
	Medias transformadas	Medias originales
447	59.7 a	74.6
292	52.6 ab	63.0
455	52.6 ab	63.0
290	47.4 ab	54.2
476	39.5 b	40.5
704	36.9 b	36.1
695	35.9 b	34.4
Testigo	11.0 c	3.7

F = 7.85** CV = 22.2%

Datos transformados en arco seno raíz cuadrada de X. Medias seguidas de una misma letra, en una misma columna, no difieren entre sí según prueba de Duncan al nivel de 5% de probabilidad.

Cuadro 5. Número de conidios de siete aislamientos de *Beauveria* spp., aplicados en la dosis de 8×10^{11} conidios/balón que efectivamente permanecieron sobre el tegumento de los adultos de *S. levis*.

Aislados No.	Conidios/adulto	
	n x 10 ⁸	% aproximado de permanencia
704	11.0	0.14
447	9.9	0.12
445	9.5	0.12
695	9.5	0.12
290	8.5	0.12
292	8.0	0.10
476	7.5	0.09

La mortalidad de los machos y de las hembras fue de 46.40% y 53.53% respectivamente, no habiendo diferencia significativa (nivel de significancia 12.90%), aunque la mortalidad de las hembras fue 7.2% superior a la de los machos. Este hecho pudo deberse al mayor tamaño de éstas, resultando en un mayor potencial de inóculo y, consecuentemente, mayor mortalidad.

El aislamiento que presentó menor TL₅₀ fue el 447, ya que los aislamientos de *B. bassiana* (292 y 455) quedaron ubicados en un grupo intermedio, pues sus tasas de potencias fueron menores que las del aislamiento 447 utilizado como patrón. El aislamiento de 290 de *B. bassiana* presentó el mayor tiempo letal acumulado (Cuadro 6).

A pesar de que todos los aislamientos fueron inoculados en adultos de *S. levis*, y reaislados para la realización de este ensayo, el comportamiento fue muy variable, mostrando que la virulencia es una característica propia del aislamiento utilizado. Fargues (6) también encontró una alta patogenicidad cuando evaluó siete aislamientos de *B. bassiana*, contra *Leptinotarsa decemlineata*. Este autor mencionó que uno de los aislamientos produjo 100% de mortalidad en cinco días, mientras que los menos virulentos causaron 10% de mortalidad después de 20 días.

Al analizar la Fig. 1, se puede notar que los aislamientos que presentaron mejores características fueron el 447, 292 y el 455 de *B. bassiana*. El aislamiento 695 de *B. brogniartii* mostró una patogenicidad muy baja, consiguiendo matar apenas 35.2% de

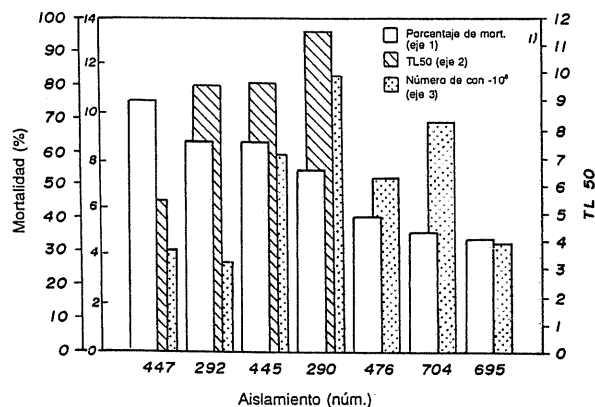


Fig. 1. Porcentaje de mortalidad, tiempos letales medios y número de conidios por adulto de *S. levis*, inoculados con *Beauveria* spp.

Cuadro 6. Tiempos letales y tasas de potencia resultantes de la inoculación de adultos de *S. levis* por *Beauveria* spp. Temperatura: $26 \pm 0.5^\circ\text{C}$; fotofase: 12 horas. Piracicaba, SP.

Aislamientos	IL ₅₀ (días)	IC* (días)	TP	Coefficiente lineal (a)	Coefficiente angular (b)
447	5.5	4.5 - 6.6	1 000 a	2.76	1.70
292	9.5	8.2 - 11.1	579 b	2.57	2.51
455	9.6	8.2 - 11.3	573 b	2.40	2.64
290	11.6	8.2 - 11.3	474 b	2.19	2.64
695**					
476**					
704**					

* Al nivel de 5% de probabilidad.

** No consiguieron 50% de mortalidad.

Tasas de potencia seguidas de la misma letra no difieren entre sí, por los valores del IC al nivel de 5% de probabilidad.

los adultos en 10 días. Con base en esos resultados el aislamiento 447 fue seleccionado para las evaluaciones de campo, ya que mostró una alta patogenicidad y virulencia, además de un óptimo crecimiento y esporulación en arroz.

3. Eficiencia de *B. bassiana* aislamiento 447 sobre adultos de *S. levis* aplicado en trampas de caña de azúcar.

En el Cuadro 7 se presenta la mortalidad media obtenida en los tres muestreos para el aislamiento 447 así como para el testigo. Se encontró que no hubo diferencia significativa en los muestreos, ni entre la interacción tratamiento por muestreo; y sí una diferencia altamente significativa entre el aislamiento 447 y el testigo, el cual presentó una mortalidad de 7.7 por ciento. Este hecho se debió, posiblemente, a la contaminación con insectos provenientes de trozos de caña tratados próximos al testigo. También en el

Cuadro 7. Porcentaje de mortalidad promedio de adultos de *S. levis* recolectados en trampas de caña de azúcar con y sin inoculación de *B. bassiana* aislamiento 447. Piracicaba, SP.

Tratamientos	Medias transformadas	Medias originales
<i>B. bassiana</i> (Aislamiento 447)	80.45 a	92.32
Testigo	12.72 b	7.72

F = 160.62**

CV = 14.05%

Datos transformados en arco seno de raíz cuadrada de porcentaje.

muestreo previo de parasitismo, antes de la instalación del experimento en el mismo local, se determinó una infección natural de 0.7% en los adultos de *S. levis*.

Los porcentajes de mortalidad obtenidos a los 4, 8 y 16 días después de la colocación de las trampas en el cañal fueron de 100%, 91.2% y 85.7% respectivamente (Fig. 2), mostrando así una alta capacidad de persistencia del hongo en condiciones de campo.

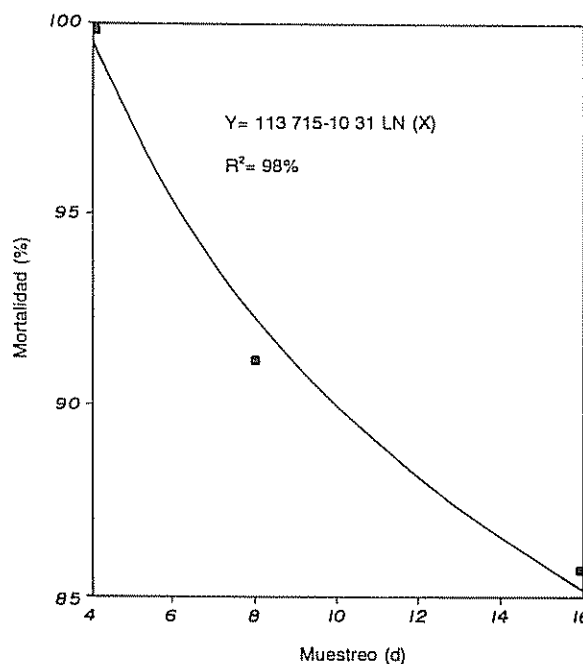


Fig. 2. Porcentaje de mortalidad de adultos de *S. levis* recolectados en trampas inoculadas en *B. bassiana* aislamiento 447, Piracicaba, SP.

Dentro de los factores más importantes en la persistencia de un patógeno en un sustrato, está el efecto de la radiación solar y la temperatura. La aplicación de *B. bassiana* en trampas protegidas con hojas de caña debe haber favorecido la persistencia, ya que la temperatura del suelo, determinada durante el experimento, estuvo entre los 19°C y 27°C y, por tanto, en la faja óptima para este hongo (7). Asimismo, trabajando con tubérculos de la especie silvestre de cucurbitácea *Ceratosanthes hilariana*, Daoust y Pereira (5) determinaron que los conidios de *B. bassiana* sobrevivieron en esos tubérculos, protegidos de la luz solar, hasta 28 días, con porcentajes de viabilidad próximos al 50 por ciento.

Los suelos del agroecosistema de la caña de azúcar, por su temperatura moderada, humedad y materia orgánica, pueden presentar un ambiente favorable para el desarrollo de los hongos entomopatógenos, entre estos *B. bassiana*. La utilización de tallos de caña inoculados con este hongo, tiene la gran ventaja de atraer adultos para un local con gran concentración de inóculo, protegido de los factores abióticos indeseables, favoreciendo así el control de esta plaga con una baja cantidad de hongos por hectárea.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos se concluye:

1. La metodología utilizada en los bioensayos con *B. bassiana* y *B. brogniartii* es adecuada para seleccionar los aislamientos más patogénicos y virulentos para adultos de *S. levis*.
2. Los aislamientos de la especie *B. bassiana* fueron más eficientes que el de *B. brogniartii* en el control de adultos de *S. levis*.
3. Los aislamientos de *B. bassiana* y *B. brogniartii* son patogénicos para adultos de *S. levis*, presentando diferencias en la patogenicidad, virulencia, y en la capacidad de esporulación.
4. El aislamiento 447 presentó una alta persistencia en el campo.

LITERATURA CITADA

1. ABBOTT, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18:264-267.
2. ALVES, S.B. 1982. Caracterização, padronização e produção do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Tese Livre-Docencia. Piracicaba, Bra., Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". 95 p.
3. BADILLA, F.F.; ALVES, S.B. 1989. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. isolado 447 ao gorgulho da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis* Vauric, 1978 (Coleoptera: Curculionidae). In Congresso Brasileiro de Entomologia (12., 1989, Brasília, Bra.). Resumos. Belo Horizonte, Bra., Sociedade Entomológica do Brasil. p. 257.
4. CHAMPLIN, F.R.; CHEUNG, P.Y.K.; PEKRL, S.; SMITH, R.J.; BURTON, R.L.; GRULA, E.A. 1981. Virulence of *Beauveria bassiana* mutants for the pecan weevil. *Journal of Economic Entomology* 74:617-621.
5. DAOUST, R.A.; PEREIRA, R.M. 1986. Stability of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on beetle attracting tubers and cowpea foliae in Brazil. *Environmental Entomology* 15:1237-1243.
6. FARGUES, J. 1972. Étude des conditions d'infection des larves de doryphore, *Leptinotarsa decemlineata* Say, par *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Fungi Imperfecti). *Entomophaga* 17:319-337.
7. FERRON, P. 1978. Biological control of insects pest by entomogenous fungi. *Annual Review of Entomology* 23:409-442.
8. FINNEY, D.J. 1947. Probit analysis. New York, Cambridge University Press. 255 p.
9. GOTTWALD, T.R.; TEDDERS, W.L. 1984. Colonization transmission and longevity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on pecan weevil larvae (Coleoptera: Curculionidae) in the soil. *Environmental Entomology* 13(2):557-560.
10. PRECETTI, A.A.C.M.; TERAN, F.O. 1983. Gorgulhos da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis* Vauric, 1978 e *Metamasius hemipterus* (L., 1765) (Col.: Curculionidae). In Reunião Técnica Agronomica. Bra., COOPERSUCAR p. 32-37.
11. PRODUÇÃO DE FUNGUS ENTOMOPATOGENICOS. 1986. In Controle Microbiano de Insetos. S.B. Alves (Ed.). Manole, Bra. p. 311-323.
12. ROBERTS, D.W.; YENDOL, W.G. 1971. Use of fungi for microbial control of insects. In *Microbial control of insects and mite*. H.O. Burges, (Ed.). New York, Academic Press. p. 125-149.
13. SOKAL, R. 1958. Probit analysis on digital computer. *Journal of Economic Entomology* 51(5):638-639.
14. TERAN, F.O.; PRECETTI, A.A.C.M. 1982. *Sphenophorus levis* e *Metamasius hemipterus* como pragas na cana-de-açúcar. *COOPERSUCAR Boletim Técnico* 18:24-26.

Antiphytoviral Drugs Against Tomato Spotted Wilt Virus¹

G. de Fazio*, M. Vicente**

ABSTRACT

Many experiments have been carried out in the Plant Virology Section of the Biological Institute of São Paulo to discover an antiviral compound to control tomato spotted wilt virus (TSWV) in tobacco and tomato plants. The following compounds have been tested to date: acyclovir (9-[hydroxyethoxymethyl] guanine); amantadine (1-adamantanamine hydrochloride); aspirin (acetylsalicylic acid); bromopyrazino-pyrazine derivative (2,3-dihydroxy-6-bromopyrazino [2,3-B] pyrazine); carbendazim (methylbenzimidazole-2-yl-carbamate); dihydroxypropyl adenine ((R,S)-9-(2,3-dihydroxypropyl adenine); distamycin A (distamycin A hydrochloride); interferon (human amniotic interferon-Beta like); lauricidin (monoglyceride of lauric acid); polyacrylic acid; ribavirin (1-beta-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide); tiazofurin (2-beta-D-ribofuranosyl-thiazole-4-carboxamide). Tiazofurin at the concentration of 100 mg/l was the most efficient drug to control TSWV in tomato plants when the leaves were sprayed twice, five days and 30 minutes after inoculation. Ribavirin also showed a remarkable inhibitory effect in tobacco and tomato plants when the leaves were sprayed with 250 mg/l and 500 mg/l four and eight days before inoculation, respectively. Symptoms could also be suppressed when the solutions were sprayed 30 min after inoculation. Other substances which showed some inhibitory effect were: Acetyl-salicylic acid at 500 mg/l, sprayed 72 h before inoculation, and the bromo-pyrazino-pyrazine derivative at 400 mg/l brushed onto the leaves 24 h before virus inoculation.

COMPENDIO

Muchos experimentos han sido conducidos en la Sección de Virología de Plantas del Instituto Biológico de São Paulo, Brasil, con el intento de descubrir y seleccionar un compuesto antiviral para controlar el TSWV en plantas de tabaco y tomate. Los siguientes componentes fueron probados hasta el momento: acyclovir, amantadina, aspirina, bromopyrazinopyrazina, carbendazima, dihidroxipropiladenina, distamicina A, interferón humano, lauricidina, ácido poliacrílico, ribavirina y tiazofurina. Tiazofurina en una concentración de 100 mg/l fue la droga más eficiente para controlar TSWV en plantas de tomate, cuando sus hojas fueron pulverizadas dos veces durante treinta minutos, cinco días después de la inoculación. Ribavirina también mostró un efecto inhibitorio en plantas de tabaco y tomate cuando fueron pulverizadas con 250 mg/l y 500 mg/l, cuatro y ocho días antes de la inoculación, respectivamente. Los síntomas fueron totalmente reprimidos cuando las soluciones fueron pulverizadas treinta minutos después de la inoculación. Otras sustancias que demostraron algún efecto inhibitorio fueron: ácido acetilsalicílico a 500 mg/l, pulverizado 72 h antes de la inoculación y el derivado bromopyrazinopyrazina pincelado sobre las hojas, 24 h antes de la inoculación con virus.

INTRODUCTION

Tomato spotted wilt virus (TSWV) has a world-wide distribution and one of the widest host ranges among plant viruses (4). The most important agricultural plants effected by TSWV are tomato, tobacco, pepper, potato and peanut (14). This virus presents some unique properties which include enveloped, roughly spherical particles, about 85 nm in diameter and is the only plant virus transmitted by thrips (14). Although TSWV is very unstable in plant

1 Received for publication 10 May 1991.

* Current address: Biologist/Research Worker, Instituto Biológico, Seção de Virologia Vegetal, Caixa Postal 7119, 01051, São Paulo, Brasil.

** Fellow of CNPq, Ph.D.

extracts it can be easily transmitted by sap inoculation. TSWV is an ssRNA virus, probably positive sense (31).

In Brazil, some strains have become adapted to Solanaceous hosts, presenting a limiting factor for tomato crops under especial environmental conditions. Control measures involving attempts to introduce resistance in productive commercial tomato cultivars have failed, and the use of insecticides to control the vector, although reducing its incidence, has not adequately controlled the disease (5).

Many experiments have been carried out at the Plant Virology Section of the São Paulo Biological Institute to identify an antiviral compound which would control TSWV replication during the early phases of plant development, when the infection may become extremely severe. Different antiviral chemotherapeutic drugs were tested using tomato and tobacco plants as TSWV hosts.

The similarity between TSWV morphology and maturation processes with some animal viruses (Bunyaviridae) (24) suggested starting the screening tests with compounds which showed promising results against some animal viruses blocking specific virus enzymes. Thus, starting with ribavirin in 1977, the following compounds were tested: acyclovir, amantadine, bromo-pyrazino-pyrazine, dihidroxy-propyl adenine, distamycin A, interferon, lauricidin and

tiazofurin, a drug structurally related to ribavirin. Since aspirin and polyacrylic acid may induce a systemic acquired resistance to viral infection, associated with the production of "b proteins" (18, 23, 26), they were included in the experiments. Furthermore, as systemic-acquired resistance may be due to a change in the endogenous hormonal balance, the systemic fungicide carben-dazim was also tested for its well known cytokinin activity (15).

MATERIALS AND METHODS

Virus source and inoculation

Plants were mechanically inoculated with a sap prepared using TSWV infected tomato leaves macerated in phosphate buffer 0.01 M containing 0.5% sodium sulphite + 0.1 M ascorbic acid in the proportion of 1 g fresh tissue/5 ml buffer. The leaves were dusted with carborundum before inoculation. Due to the instability of the virus all manipulations were carried out under cold conditions ($\pm 4^{\circ}\text{C}$). To confirm the inoculum infectivity, all controls were inoculated after the treatments.

Compounds

The generic and chemical names of the compounds used as well as sources are listed in Table 1. Structural formulae of some are presented in Fig. 1.

Table 1. Compounds tested against tomato spotted wilt virus in tomato and tobacco plants.

Generic name	Chemical name	Source
Acyclovir	9-(hydroxyethoxy methyl guanine	(Dr H J Schaeff) Borroughs Wellcome North Carolina (USA)
Amantadine (Symmetrel)	1-adamantanamine hydrochloride	Ciba-Geigy Wehr/Baden Germany
Aspirin	acetyl-salicylic acid	Bayer Laboratories, Brazil
Bromo-pyrazinopyrazine derivative	2,3-dihydroxy-6-bromopyrazino (2,3 beta) pyrazine	Dr. A. Verini Carlo Erba Nerviano, Italy
Carbendazim (DPX-965-75)	methyl-benzimidazole-2-yl-carbamate	Dr Carlos Viana Du Pont, Brazil
Dihydroxy propyl adenine (DHPA)	(R,S)-9-(2,3-dihydroxypropyl) adenine	Dr. E. De Clercq Rega Institute, Leuven, Belgium

Continuation Table 1.

Generic name	Chemical name	Source
Distamycin A	Distamycin A hydrochloride	Dr. A. Verini, Carlo Erba Nerviano - Italy
Interferon (Beta like)	Human amniotic interferon	Dr. R.R. Golgher Virus laboratory, Federal University of Minas Gerais - Belo Horizonte-Brazil
Lauricidin	Monoglyceride of lauric acid	(Dr. J. Kabara) Michigan State University, Michigan - USA
Polyacrylic acid (Versicol)	Polyacrylic acid M.W. 3 500	Allied Colloids Ltd. Bradford - England
Ribavirin (Virazole)	1-beta-D-ribofuranosyl-1,2,4,-triazole- 3-carboxamide	Dr. I. Martirani ICN-Usafarma, São Paulo - Brazil
Tiazofurin	2-beta-D-ribofuranosyl-thiazole- 4-carboxamide	Dr. R.K. Robins Cancer Res. Center-Brigham Young University - Provo - USA

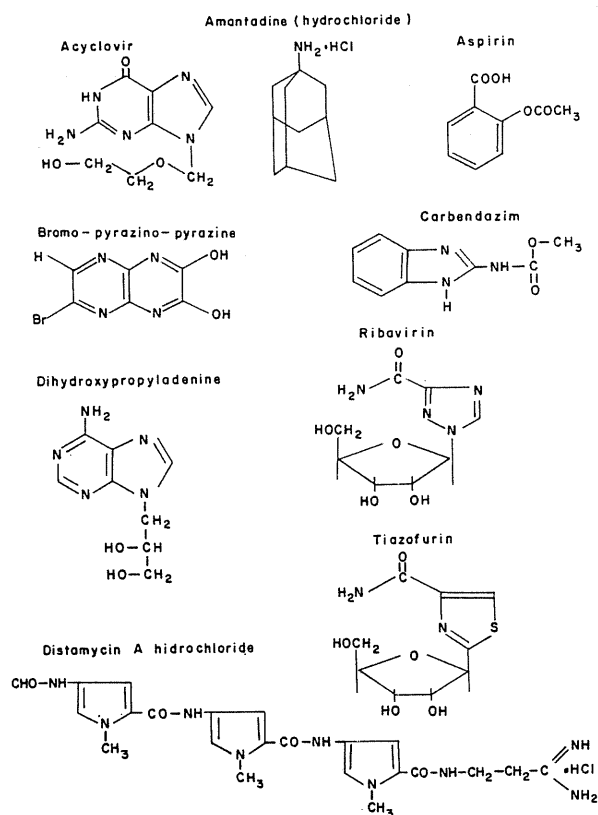


Fig. 1. Structural formulae of some antiviral compounds tested against tomato spotted wilt virus (TSWV).

Plants

The antiviral compounds were applied to tobacco 'White Burley' and/or tomato 'Sta. Cruz' plants. In all cases 10 potted, two to three-month old plants were used for each drug concentration, and for controls.

In order to verify if symptomless treated plants were virus-free, a recovery test was carried out when controls showed typical systemic symptoms (± 10 days after inoculation). For these recovery tests local reaction hosts such as *Phaseolus vulgaris* 'Manteiga' and *Petunia hybrida* were used.

The antiviral solutions were prepared with distilled water adding one drop of Tween 20/100 ml solution as a wetting agent. The solutions were mainly sprayed on the leaves once or more, according to the drug used (Tables 2 and 3). The plants were sprayed until dripping. Only one spray was applied for the majority of the chemicals before or after inoculation. For aspirin, three sprays were also applied at 24 h intervals and two sprays of dihydroxy-propyladenine were applied, immediately before and after inoculation. Brushing was the method used when the compounds were available in very small amounts.

This method consisted in applying the liquid on the leaf surface with the help of a soft brush. Irrigations were used only in the case of carbendazim; suspensions being prepared in water and applied twice to the soil of the potted plants with a 24 h interval.

Plants were kept in a glasshouse and observed daily during a period of 30 days. Local lesions appeared within approximately seven days in both host plants, tobacco and tomato. In tomato, visible local lesions could not be counted due to the coalescence of their borders. In tobacco local lesions were counted allowing evaluation of the inhibition

percentage (IP) in which controls are compared to treatments according to the formula:

$$IP = (1-A/B) \cdot 100,$$

where A= average number of local lesions in treated plants, and B = average number of local lesions in control plants.

Systemic symptoms could be observed in tobacco and tomato approximately 10 days after inoculation. The evaluation of the antiviral effect of each chemical was measured through the percentage of systemically infected plants (SIP) 20 d after inoculation.

Table 2. Effect of antiviral compounds against TSWV in tobacco plants.

Generic name	Method of application	Dosage ¹	IP ²	SIP ³ (%)	
Acyclovir	Sprayed once 30 min after inoculation	400 mg/l	0	100	
		0	—	100	
Amantadine (Symmetrel)	Sprayed once 30 min after inoculation	10 mg/l	37	100	
		50 mg/l	24	90	
		100 mg/l	33	100	
		500 mg/l	43	100	
		0	—	100	
Aspirin	Sprayed once 24, 48 or 72 h before inoculation	250 mg/l	24 h 8	83	
			48 h 52	67	
			72 h 54	67	
		500 mg/l	24 h 6	67	
			48 h 84	17	
			72 h 90	17	
	0	Sprayed 3 times with 24 h interval before inoculation	—	—	90
			250 mg/l	52	50
			500 mg/l	84	30
			1 000 mg/l	94	10
		0	—	(phytotoxic) 100	
Bromo-pyrazino-pyrazine derivative	Brushed once, 2 h before inoculation	200 mg/l	100	40	
		400 mg/l	100	10	
		0	—	80	
Carbendazim (DPX-965-75)	Irrigated twice, 24 and 48 h before inoculation	0.5 g/l	0	100	
		1.0 g/l	0	100	
		2.0 g/l	8	85	
		5.0 g/l	35	82	
		10.0 g/l	57	100	
		0	—	90	
Dihydroxy propyl adenine (DHPA)	Sprayed twice, 5 min before and 5 min after inoculation	500 mg/l	26	50	
		0	—	70	
Distamycin A	Brushed once, 2 h before inoculation	200 mg/l	0	80	
		400 mg/l	49	40	
		0	—	80	

Continuation Table 2.

Generic name	Method of application	Dosage ¹	IP ²	SIP ³ (%)	
Interferon (beta-like)	Brushed once, 72 h before inoculation	0.001 U/ml	60	85	
		1 U/ml	43	90	
		100 U/ml	50	90	
		0	--	90	
Lauricidin	Sprayed once, 30 min after inoculation	1 ml/l	0	100 (phytotoxic)	
		0		100	
Polyacrylic acid (Versicol)	Sprayed once, 30 min, 24 h, 48 h, 72 h or 96 h before inoculation	200 mg/ml	30 min 0 24 h 61 48 h 83 72 h 57 96 h 45	100 100 100 100 100	
		0	--	100	
		Sprayed once, 30 min or 48 h before inocu- lation	10 mg/ml	30 min 0 48 h 86	100 90
			20 mg/ml	30 min 0 48 h 89	100 70
			40 mg/ml	30 min 0 48 h 87	100 100
	0	--	100		
	Ribavirin (Virazole)	Sprayed once, 96 h before inoculation	100 mg/l	60	60
			250 mg/l	60	0
			500 mg/l	60	0
			0	--	100
Sprayed once, 30 min after inoculation		100 mg/l	0	10	
		250 mg/l	0	0	
		500 mg/l	0	0	
0	--	100			
Tiazofurin	Sprayed once, 30 min after inoculation	100 mg/l	93	20	
		200 mg/l	100	0 (phytotoxic)	
		0	--	100	

1 0 = control

2 Inhibition percentage in relation to the number of local lesions calculated seven days after inoculation.

3 Systemically-infected plants 20 days after inoculation.

Experiments were repeated twice and data expressed in Tables 2 and 3 contain the results of one of the tests.

RESULTS

The results obtained with the antiviral compounds tested against TSWV in tobacco and tomato plants are presented in Tables 2 and 3.

Acyclovir: Acyclovir is a derivative of guanine which selectively inhibits the replication of herpes

simplex virus types 1 and 2. It is converted to triphosphate in herpes-infected cells being, in this form, a more potent inhibitor of virus specific DNA polymerase than of the cell alpha-DNA polymerase (1, 16).

This drug showed no inhibitory effect against TSWV, even at the high concentration of 400 mg/l, when sprayed on tobacco plants 30 min after inoculation.

Amantadine: Amantadine has been show to be effective in the prevention and treatment of an (SS)

Table 3. Effect of antiviral compounds against ISWV in tomato plants.

Generic name	Method of application	Dosage ¹	SIP ²	
Aspirin	Sprayed once, 72 h before inoculation	250 mg/l	100	
		500 mg/l	75	
		0	100	
Dihydroxy propyl adenine (DHPA)	Sprayed once, 30 min before inoculation	800 mg/l	100	
		0	100	
Lauricidin	Sprayed once, 30 min after inoculation	1 ml/l	100 (phytotoxic)	
		0	100	
Polyacrylic acid (Versicol)	Sprayed once, 48 h before inoculation	20 mg/ml	100	
		40 mg/ml	100	
		0	100	
Ribavirin (Virazole)	Sprayed once, 30 min after inoculation	100 mg/l	60	
		200 mg/l	80	
		300 mg/l	60	
		400 mg/l	70	
		500 mg/l	10	
		0	90	
	Sprayed twice, 30 min and 24 h after inoculation	500 mg/l	45	
		0	100	
	Tiazofurin	Sprayed once, 30 min after inoculation	50 mg/l	80
			150 mg/l	40
200 mg/l			40	
0			100	
Sprayed once, 5 or 9 d before inoculation		100 mg/l	5 days 100 9 days 100	
		0	100	
Sprayed once, 5 or 9 d after inoculation		100 mg/l	5 days 20 9 days 100	
		0	100	
Sprayed twice, 30 min and 5 d after inoculation		100 mg/l	10	
		0	100	

1 0 = Control

2 Systemically infected (%) plants 20 days after inoculation.

RNA human virus, influenza type A, but not types B or C (17).

In tobacco it inhibited local lesions induced by TSWV in low percentage (below 45 per cent). Moreover the drug did not protect the plant against the spread of the systemic infection.

Aspirin: Acetylsalicylic acid and salicylates may induce new proteins in plants which are characteristic of a hypersensitive reaction to pathogens (23, 26, 34). When aspirin was applied once before virus inocula-

tion in tobacco plants, the highest inhibitory effect was observed when 500 mg/l was sprayed 48 or 72 h before TSWV inoculation (SIP 17 per cent) (11). Aspirin applied three times before virus inoculation in concentrations of 250, 500 and 1000 mg/l, inhibited local lesions inducing IPs of 52 %, 84 % and 94 % respectively. At 1000 mg/l however, the drug induced a strong phytotoxic effect consisting of leaf blade burning, although the solutions were always neutralized to pH 7 with sodium bicarbonate 1.0 M. In tomato plants under similar conditions a low protective effect could be observed when 500 mg/l

was sprayed 72 h before virus inoculation (SIP 75 per cent) (11).

Bromo-pyrazino-pyrazine: The compound showed *in vitro* antiviral activity against RNA and DNA animal viruses (30).

In tobacco plants the drug was applied 2 h before virus inoculation at concentrations of 200 and 400 mg/l. The compound was effective only at the 400 mg/l concentration, delaying the appearance of systemic symptoms (9). This drug was not tested in tomato plants.

Carbendazim: Carbendazim, a well known systemic fungicide used in agriculture, indirectly inhibits viral RNA synthesis by maintaining the host in a state unsuitable for viral multiplication (15).

When tobacco plants were irrigated twice with an aqueous suspension of the compound (24 h and 48 h before virus inoculation) a bimodal effect against TSWV was observed: low dosages such as 0.5 g/l and 1.0 g/l increased the number of local lesions with the IP zero. High dosages such as 10.0 g/l reduced the number of local lesions to 57 inhibition percentage. However, in all concentrations the drug was unable to control the spread of the systemic infection allowing the appearance of a high percentage of systemically-infected plants 20 d after inoculation (10).

Dihydroxypropyl adenine: (R,S)DHPA is a S-adenosylhomocysteine hydrolase (SAH-hydrolase) inhibitor with broad spectrum antiviral activity. It acts against some DNA viruses, most (-) and (±) RNA viruses but not (+) RNA viruses, except some plant viruses: Potex, Poty, Tobamo and Tymoviruses (6, 12, 13). Its effect was null against TSWV in tomato and very low in tobacco plants (12).

Distamycin A hydrochloride: Distamycin A, a synthetic antibiotic, inhibits the multiplication of some animal and human DNA viruses (3, 19). When used against TSWV in tobacco plants 2 h before virus inoculation, it inhibited local lesions, inducing almost 50 per cent IP at a 400 mg/l concentration. In this same concentration the systemic reaction in tobacco plants decreased 50 per cent in relation to controls (9).

Interferon: It was demonstrated that interferons may protect tobacco plants or protoplasts against

TMV infection (25, 27). Similar results were obtained by Vicente *et al.* (32, 33) using human gamma and human amniotic interferons against different plant viruses.

Human amniotic interferon (Beta-like) when brushed on tobacco leaves 72 h before TSWV inoculation, induced inhibition percentages around 50 even at a low concentration, as low as 0.001 U/ml. However there was no protection in relation to the systemic infection.

Lauricidin: Lauricidin is a monolaurin compound and a monoglyceride of lauric acid, acting as a detergent. It is the trade name of a monolaurin, consisting of approximately 90 per cent 1-ester and 10 per cent 2-ester and has been effective against lipid-containing bacterial viruses and enveloped viruses (21). When sprayed at a concentration of 1 ml/l on tobacco and tomato plants after inoculation, it showed no inhibitory effect on tomato spotted wilt virus. A strong phytotoxicity in the form of burning of the leaf blades could be observed in both tobacco and tomato plants.

Polyacrylic acid: Polyacrylic acid was considered a chemical able to induce both interferon in animals and resistance in plants (18, 22). The drug was effective in controlling local lesions in tobacco plants with a time interval of 48 h between treatment and inoculation. Lower or higher time intervals were less effective. When the systemic infection was evaluated, no protection could be observed in any case. In tomato plants TSWV lesions could not be counted and the drug was completely ineffective in controlling systemic reaction, as observed in tobacco plants (11).

Ribavirin: Ribavirin, synthesized by Witkowski in 1972, was shown to have a extremely broad spectrum antiviral activity *in vitro* against animal viruses (28). The drug was tested against some plant viruses showing promising results (20).

In tobacco plants, pre-treatments with 250 mg/l applied 96 h before virus inoculation, were considered the best combination treatment to drastically reduce the number of systemically infected plants. The drug was also shown to be highly active when sprayed at 500 mg/l even eight days before inoculation (8). Treatments with 100 mg/l, 250 mg/l or 500 mg/l when applied 30 min after inoculation, were also

effective against TSWV systemic infection (7, 8). In this case, however, the drug did not inhibit local reaction but a smaller size of the local lesions in relation to the control was observed (8). In tomato plants, the most efficient concentration to control TSWV was 500 mg/l when applied 30 min after inoculation. Tobacco and tomato plants sprayed with ribavirin at 500 mg/l in the first two days, showed a chlorosis of the apical bud which was overcome after three days.

Tiazofurin: Tiazofurin was reported to be active as an anti-tumor compound and also as an anti-viral agent (29). In tobacco plants, 100 mg/l applied 30 min after inoculation was efficient in suppressing TSWV local and systemic infection, and 200 mg/l was highly phytotoxic to the plant. However, in tomato plants, this same concentration did not show any phytotoxicity and also reduced the percentage of systemically infected plants.

It was verified in tomato plants, that pre-treatments did not inhibit systemic reaction; and that the drug was highly efficient in controlling systemic infection, especially when applied once or twice after inoculation at 100 mg/l, and when the second spray was applied five days after inoculation. In all cases, a delay in the appearance of systemic symptoms was observed in treated tomato plants, indicating a decrease in virus spread and virus concentration within tomato plants (2).

Phytotoxicity: Among tested compounds some were highly phytotoxic to the plants in the dosages applied, inducing a burning of leaf blades or an irreversible wilting. To this group belonged aspirin at 1000 mg/l and lauricidin at 1 ml/l. Tiazofurin was phytotoxic to tobacco plants only at the 200 mg/l concentration. The phytotoxicity of ribavirin at 500 mg/l consisted of a strong chlorosis of the youngest leaves (apical buds) in tobacco and tomato plants, which disappeared in three days. In tobacco a narrowing of the leaf blades followed the symptoms.

DISCUSSION

Ribavirin and tiazofurin were the most efficient drugs to control TSWV in tobacco and tomato plants. Both are guanosine analogs with similar structural relationships.

Comparing the results obtained with these two compounds, low concentrations of tiazofurin were more efficient than similar ribavirin dosages in suppressing TSWV systemic infection in tomato plants (2). On the other hand ribavirin was already tested against at least 10 different plant viruses being effective not only in experimental tests but also in obtaining virus-free plants from infected stocks (20). Thus, the effect of tiazofurin, although not yet explored against other plant viruses, must be emphasized for its strong inhibitory activity, even when applied after inoculation (2).

According to Hansen (20) a broad spectrum antiviral chemical, produced at reasonable costs and ecologically neutral, will facilitate practical usage of antiviral chemicals in agriculture and horticulture.

LITERATURE CITED

1. BRIGDEN, D.; FIDDIAN, P.; ROSLING, A.E.; RAVENCRAFT, T. 1981. Acyclovir: A review of the preclinical and early chemical data of a new antiherpes drug. *Antiviral Research* 1:203-212.
2. CANER, J.; ALEXANDRE, M.A.V.; VICENTE, M. 1984. Effect of tiazofurin on tomato plants infected with tomato spotted wilt virus. *Antiviral Research* 4:325-331.
3. CASAZZA, A.M.; FIORETTI, A.; GHIONE, M.; SOLDATI, M.; VERINI, M.A. 1966. Distamycin A: A new antiviral antibiotic. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. p. 593-598.
4. CHAGAS, C.M.; VICENTE, M. 1977. Tomato spotted wilt virus: Diseases caused by viruses and viroides. In *Diseases, Pests and Weeds in Tropical Crops*. J. Kranz, H. Schmutterer, W. Kock (Eds.). Paul Parey. p. 35-37.
5. COSTA, C.L.; COSTA, A.S.; NAGAI, H. 1977. Controle de "vira-cabeça" do tomateiro pela destruição do vetor. III. Efeito de inseticida sistêmico granulado combinado com pulverizações. *Fitopatologia Brasileira* 2:23-34.
6. DE CLERCQ, E. 1987. S-adenosylhomocysteine hydrolase inhibitors as broad-spectrum antiviral agents. *Biochemical Pharmacology* 36:2567-2575.

7. DE FAZIO, G.; CANER, J.; VICENTE, M. 1980. Effect of Virazole (Ribavirin) on tomato spotted wilt virus in two systemic hosts: Tomato and tobacco. *Archives of Virology* 63:305-309.
8. DE FAZIO, G.; KUDAMATSU, M.; VICENTE, M. 1980. Virazole pre-treatments for the prevention of tomato spotted wilt virus (TSWV) systemic infection in tobacco plants, *Nicotiana tabacum* L. 'White Burley'. *Fitopatologia Brasileira* 5:343-349.
9. DE FAZIO, G.; KUDAMATSU, M. 1983. Inhibitory effect of Distamycin -A and a pyrazino-pyrazine derivative on tomato spotted wilt virus. *Antiviral Research* 3:109-113.
10. DE FAZIO, G.; KUDAMATSU, M. 1984. Ação do Carbendazim sobre plantas de fumo infectadas com o vírus do vira-cabeça do tomateiro (TSWV). *O Biológico* 50:51-54.
11. DE FAZIO, G.; KUDAMATSU, M.; VICENTE, M. 1987. Efeito antiviral do ácido acetil salicílico e do ácido poliacrílico sobre o vírus do vira-cabeça do tomateiro ("Brazilian tomato spotted wilt virus" TSWV) em plantas de fumo. *Fitopatologia Brasileira* 12:53-57.
12. DE FAZIO, G.; VICENTE, M.; DE CLERCQ, E. 1987. Antiviral effects of dihydroxypropyladenine [(RS) - DHPA] and bromovinyldeoxyuridine (BVDU) on plant viruses. *Antiviral Research* 8:163-169.
13. DE FAZIO, G.; ALBA, A.P.C.; VICENTE, M.; DE CLERCQ, E. 1990. Antiviral activity of S-adenosylhomocysteine hydrolase inhibitors against plant viruses. *Antiviral Research* 13:219-226.
14. FRANCKI, R.I.B.; HATTI, T. 1981. Tomato spotted wilt virus in plant virus infections: Comparative diagnosis. E. Kurstak (Ed.) Elsevier. p. 492-512.
15. FRASER, R.S.S.; WHENHAM, R.J. 1978. Chemotherapy of plant virus disease with methyl benzimidazol - 2yl - carbamate: Effects on plant growth and multiplication of tobacco mosaic virus. *Physiological Plant Pathology* 13:51-64.
16. FURMAN, P.A.; MIRANDA, P.; ST. CLAIR, M.H.; ELION, G.B. 1981. Metabolism of Acyclovir in virus-infected and uninfected cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 20:518-524.
17. GALASSO, G.J. 1981. An assessment of antiviral drugs for the management of infectious diseases in humans. *Antiviral Research* 1:73-96.
18. GIANINAZZI, S.; DUMAS, E.; ANTONIW, J.F.; WHITE, R.F. 1985. Plant interferon: A wish or a reality? In *Recent Topics in Experimental and Conceptual Plant Pathology*. Singh R.S. (Ed.). Oxford.
19. HAHN, F.E. 1980. Nucleic acid complexing compounds. *Antibiotics Chemotherapy* 27:70-92.
20. HANSEN, A.J. 1989. Antiviral chemicals for plant disease control. In *CRC Critical Reviews in Plant Sciences*. CRC Press. v. 8, Issue 1, p. 45-88.
21. HIERHOLZER, J.C.; KABARA, J.J. 1982. *In vitro* effects of monolaurin compounds on enveloped RNA and DNA viruses. *Journal of Food Safety* 4:1-12.
22. KASSANIS, B.; WHITE, R.F. 1975. Polyacrylic acid-induced resistance to tobacco mosaic virus in tobacco cv. Xanthi. *Annals of Applied Biology* 79:215-220.
23. KASSANIS, B. 1981. Some speculations on the nature of natural defence mechanism of plants against virus infection. *Phytopathologische Zeitschrift* 102:277-291.
24. MATTHEWS, R.E.F. 1982. Classification and nomenclature of viruses. *Intervirology* 17:123.
25. ORCHANSKY, P.; RUBINSTEIN, M.; SELA, I. 1982. Human interferons protect plants from virus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 79:2278-2280.
26. PENNAZIO, S.; MARTELLI, G.P. 1983. La chemioterapia delle virosi delle piante. *La difesa delle piante* 5:291-320.
27. ROSENBERG, N.; REICHMAN, M.; GERA, A.; SELA, I. 1985. Antiviral activity of natural and recombinant human leukocyte interferon in tobacco protoplasts. *Virology* 140:173-178.
28. SMITH, R.A.; KIRKPATRICK, W. 1980. Ribavirin: A broad spectrum antiviral agent. Academic Press. 237 p.
29. SRIVASTAVA, P.C.; PICKERING, M.V.; ALLEN, L.B.; STREETER, D. G.; CAMPBELL, M.T.; WITKOWSKI, J.T.; SIDWELL, R.V.; ROBINS, R.K. 1977. Synthesis and antiviral activity of certain thiazole C-nucleosides. *Journal of Medical Chemistry* 20:256-262.
30. VERINI, M.A.; FIORETTI, A.; CASAZZA, A.M.; SANFILIPPO, G.; PALAMIDESSI, G.; GHIONE, M. 1975. Antiviral activity of a pyrazino pyrazine derivative. *Chemotherapy* 21:221-230.
31. VERKLEIJ, F.N.; DE VRIES, P.; PETERS, D. 1982. Evidence that Tomato Spotted Wilt Virus RNA is a positive strand. *Journal of General Virology* 58:329-338.

32. VICENTE, M.; DE FAZIO, G.; MENEZES, M.E.; GOLGHER, R.R. 1987. Inhibition of plant viruses by human gamma interferon. *Journal of Phytopathology* 119:25-31.
33. VICENTE, M.; DE FAZIO, G.; GOLGHER, R.R. 1988. Inhibitory effect of human amniotic interferon in four plant virus systems. São Paulo. *Rev. Microbiol.* 19:184-189.
34. WHITE, R.F.; ANTONIW, J.F.; CARR, J.P.; WOODS, R.D. 1983. The effects of aspirin and polyacrylic acid on the multiplication and spread of TMV in different cultivars of tobacco with and without the N-gene. *Phytopathologische Zeitschrift* 107:224-232.

RESEÑA DE LIBROS

SPARKS, D.L.; SUÁREZ, D.L. (EDS.). 1991. *Rates of soil chemical processes*. Madison, Wisconsin, Estados Unidos, Soil Science Society of America. 302 p.

La investigación reciente ha mostrado que las tasas con que ocurren las reacciones en suelos son de gran importancia. Algunos trabajos relacionados con este tema se presentaron en un simposio de la reunión anual de la *Soil Science Society of America*, y muchas de estas contribuciones, en forma más elaborada, constituyen capítulos de este volumen. El material presentado y los métodos propuestos representan los conceptos más recientes y adelantados para analizar procesos químicos en suelos. El texto se preparó para especialistas y estudiantes graduados avanzados en química de suelos y campos afines como la geoquímica, química de sedimentos y química del medio ambiente, por lo que para su aprovechamiento se requieren sólidos conocimientos de química.

Este texto permitirá, si se poseen conocimientos sobre la cinética de las reacciones paralelas, com-

prender mejor lo que ocurre con las diferentes sustancias en el suelo. Seis de los once capítulos del libro se dedican al estudio de la cinética de procesos químicos en suelos o de casos particulares, tales como la cinética de las reacciones redox de los óxidos de manganeso en suelos, la de la absorción de sustancias orgánicas en suelos y la de la absorción de iones sobre sustancias lúnicas.

Debido a que la adquisición de información nueva requiere técnicas novedosas y una interpretación adecuada, se incluye un capítulo sobre cómo obtener y analizar datos en cinética de suelos y cómo preparar modelos con esta información.

Como es costumbre en libros de este nivel, todos los capítulos tienen una amplia bibliografía, especialmente sobre procesos ambientales cuidadosamente estudiados en Europa.

ELEMER BORNEMISZA
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Pearl Millet. II. Vigor Evaluation and Selection for Improved Seedling Vigor¹

R.K. Maiti*, P.S. Raju**, F.R. Bidinger**

ABSTRACT

Evaluation of seedling vigor of a number of pearl millet cultivars has been assessed using the visual scoring method and direct measurement under field conditions. Visual evaluation of seedling size, using a relative scale based on the extremes of vigor in the material being evaluated, was found to be nearly as effective as direct measurement of seedling size for evaluating genotype difference, and much simpler to use. Statistically significant differences among genotypes could be obtained using this method. Direct selection for seedling vigor under field conditions was combined with selection for agronomic traits and was useful in producing inbred lines combining both good seedling vigor and plant type. The yielding ability of a synthetic variety found by intermating nine of these inbred lines was equal to that of the open pollinated checks in three trials. Improvement in seedling vigor, as defined by seedling size, therefore seems to be feasible by combining a larger grain size with direct selection for seedling size in field conditions. Both types of selection should be simple to include in a breeding program without major additional effort.

COMPENDIO

Se evaluó el vigor de las plántulas de un cierto número de variedades de mijo peria usando el método de estimación visual y medidas directas en condiciones de campo. Para la estimación visual del tamaño de las plántulas se empleó una escala relativa basada en los extremos del vigor del material evaluado, encontrando que este método fue casi tan efectivo como la medición directa del tamaño de las plantas al estimar diferencias genotípicas y más simple de usar. El método permitió detectar diferencias estadísticamente significativas entre genotipos. La selección directa por vigor de las plántulas en condiciones de campo, fue combinada con la selección de otras características agronómicas, útil en la producción de líneas puras que reúnen tanto el vigor de las plántulas como el tipo de planta. La productividad de una variedad sintética, formada por el cruce de nueve de estas líneas puras, fue igual a la de los testigos producidos por polinización abierta en tres pruebas. El mejoramiento en el vigor de las plántulas, definido como el tamaño de la plántula, parece ser posible si se combina un tamaño de grano más grande con la selección directa del tamaño de las plántulas, en condiciones de campo. Los dos tipos de selección son sencillos como para ser incluidos en un programa de mejoramiento sin mucho problema.

INTRODUCTION

Differences among millet lines in early seedling growth are clearly visible in the field, and a visual rating of vigor, if sufficiently reproducible, would be adequate for most breeding requirements. Visual ratings of seedling

vigor have been used in breeding for this characteristic in grasses (1,2,6) and in sorghum which is found to be highly efficient. After some experimentation it was found that the use of a relative scale, with its extremes adjusted to the extremes of vigor present in the material being scored, was the most satisfactory.

¹ Received for publication 18 February 1988.

* Current address: Profesor in Botany, División de Post/Grado, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Ciudad Universitaria, Apartado Postal 2790, Monterrey, N.L., México.

** International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT), Patancheru P.O.; Andhra Pradesh 502324, India.

MATERIALS AND METHODS

Direct measurement (seedling vigor)

A set of 80 breeding lines plus two hybrid checks was evaluated for seedling vigor in a field trial in

1976. Fifteen days after emergence the height of 10 seedlings per entry was measured; these were cut at ground level and the dry weight of the above ground parts determined. The experiment was replicated four times.

Visual evaluation

Simple scales of either 1 - 4 or 1 - 5 were used, following the technique of Maiti *et al.* (3), with 1 being assigned to the most vigorous lines and 4 or 5 to the least vigorous. The following criteria are considered in the visual evaluation of seedling vigor: height and spread of leaf canopy, diameter of the pseudostem (leaf sheathes), and the length and breadth of individual leaves. The method involves an initial survey of the material to be scored to determine the degree of variation in seedling size and the selection of individual rows or plots to serve as reference points for the extremes (or all points) of the scale. These reference plots may be referred to during the course of the scoring if necessary.

The relationship of visual score and measured plant growth was tested in a replicated field experiment in 1977 with 27 selected millet lines representing a range in seedling vigor. Scoring was undertaken on a 1 - 4 scale at 14 d after emergence and 10 representative plants per plot were harvested at 15 d for measurement of seedling leaf area and dry weight.

Selection for improved seedling vigor

From the previous experiment (5) and from the measurement of seedling dry weight of lines from the working collection (a sample of germplasm and breeding materials chosen to represent the useful genetic variation in pearl millet), a number of lines with good seedling size were identified. Many of these however were poorly adapted to Indian conditions — primarily in that they were too tall and too late to flower — and consequently not directly useful to the breeding program, despite their seedling vigor. It was therefore decided to develop a set of high seedling vigor lines with improved agronomic characteristics.

A partial diallel cross was made in the dry season of 1977 among nine lines from the above set, selected for better agronomic type and seedling vigor.

Progeny from these crosses were subjected to pedigree selection for seedling size by visual evaluation, and for panicle size, grain size and reduced non-productive tillering. Yield tests of 35 F₃ and F₆ lines in comparison were carried out in 1980 using two F₁ hybrids as checks.

RESULTS AND DISCUSSION

Direct measurement (seedling vigor)

There were significant differences among lines in both height ($P < .01$) and dry weight ($P < .05$). The range among entries for dry weight was far greater than that for height, but the experimental variation was also greater (Table 1). Either measurement however, was satisfactory to distinguish the more vigorous from the less vigorous seedlings. The main conclusion drawn from the experiment was, however, that the effort involved in the direct measurement of seedling dry weight would be excessive if the method were to be used on a large scale. In addition, the destructive sampling necessitated either the sowing of separate experiments or the sacrificing of portions of other tests for the measurement of seedling vigor.

Table 1. Comparison of seedling vigor of breeding lines of pearl millet by direct measurement of seedling height and dry weight at 15 days after emergence (breeding lines trial 1976).

	Height (cm)	Weight (g/plant)
Mean	9.1	0.27
Range	6.2 - 11.7	0.10 - 0.82
F ratio (genotype)	3.03**	1.67*
SE	0.67	0.083
CV (%)	7.4	30.9

** $P < .01$; * $P < .05$; $n = 82$

Visual evaluation

Correlation of visual score to both measured parameters were strong (coefficients of determination of .70 and .73 for leaf area and dry weight respectively). There was some deviation from linearity in these relationships, but the best lines, as determined by measured growth, were clearly identified by the visual evaluation.

Visual scoring was carried out on a number of replicated breeding trials in 1977 to determine how effective the method was in distinguishing statistical differences among lines. Results from two of these, presented in Table 2, show highly significant differences ($P < .01$) for visual score among entries in both trials.

Table 2. Analyses of variance of visual score for seedling vigor in All Indian Coordinated Millet Improvement Project (AICMIP) advanced hybrid trial and in the intervarietal composites S1 progeny trial (breeding trials evaluation 1977).

	AICMIP trial	S1 progeny trial
No. of entries	22	315
Replications	3	2
Scale used	1-5	1-5
Mean score (trial)	2.6	2.8
Range in entry means	1.7-3.7	1.0-5.0
F ratio (entry)	2.44**	2.66**
SE	0.34	0.53
CV (%)	22	19

** $P < 0.1$

The use of a relative rather than an absolute scale resulted in a full range of scores, which are usually normally distributed allowing direct statistical analysis (avoiding the need for transformation of data). The scores are also usually sufficiently repeatable to allow statistical differentiation of entries, even with cultivars in the range of 20 percent. For most estimates of

seedling vigor (where large seedling size is the objective) visual assessment using a relative scale should be adequate. A similar conclusion has been reported for sorghum.

Selection for improved seedling vigor

Most of the lines had acceptable maturity, head size and grain size (Table 3). The better lines had a seedling size comparable to the hybrid check MBH 110 (a large-seeded cultivar which produces very vigorous seedlings) and several had grain yield approaching those of the checks (Table 4). Considering that the seedling vigor lines were highly inbred, these results were very promising.

Yields of ICMS 8153 at both locations were similar to those of the standard, open-pollinated check varieties WC-C75 and ICMS 7703 (Table 5) (although there may be some loss of yield with additional inter mating as the component lines were highly inbred and the first generation synthetics undoubtedly benefit from some degree of hybrid vigor).

The results of the selection exercise indicate that it is possible to combine selection for high seedling vigor with selection for agronomic performance and that simple visual scoring at approximately two weeks after emergence is effective in identifying individuals with good seedling vigor. The effort required to incorporate this selection into a breeding program is not great. In early generations, superior seedlings can be easily identified (by tagging for example) for

Table 3. Summary of results of yield test of seedling vigor inbred lines (field trial 1980).

Variable	Mean	Range	F ratio (entry)	S.E.	CV (%)
Visual score for seedling vigor	2.6	1-4	2.91**	0.31	13
Dry wt. at 15 days (g/plant)	0.72	0.54-1.05	1.71*	0.086	13
Days to flowering	41	36-45	5.47**	0.8	2
Panicle length (cm)	25	18-28	3.48**	1.0	5
1000 grain wt. (g)	8.3	6.8-11.8	5.96**	0.33	4
Grain yield (kg/ha)	2.170	1.250-3.360	4.40**	220	11

** $P < 0.1$; * $P < 0.5$; $n = 37$

Table 4. Seedling vigor and grain yield of the highest seedling vigor inbred lines, best yielding inbred lines, and check hybrids (inbred yield trial 1980).

Cross/cultivar	Vigor score	Seedling t. (g/plant)	Grain yield (kg/ha)	100 seed wt. (g)
Best vigor lines				
(700594xK-560-11) x 13033	1.5	0.35	2 190	0.98
(700594xK-560-11) x [SD2 ExB-2(D-1005-3-2)]	1.5	0.89	3 160	0.95
(700594xK-560-11) x 66A	1.7	0.94	2 830	0.90
(700594xK-560-11) x 66A	2.2	0.75	2 280	0.92
(700440x700651-2-1) x (SD2xExB-2(ESD-1003-1))	2.2	0.90	1 920	0.81
High yielding lines				
(700594xK-560-11) x [SD2xExB-2(D-1005-3-2)]	1.5	0.89	3 160	0.95
(700594xK-560-11) x 66A	1.7	0.94	2 830	0.90
66A x (J-25-1x700797-12-1)	3.0	0.67	2 740	0.95
(SD2xEx B-2(ESD-1003-1)x(700440x700651-2-1))	2.7	0.66	2 700	0.85
(700594xK-560-11) x (SD2xExB-2(ESD-1003-1))	2.5	0.69	2 610	0.72
Check lines				
MBH 110	1.0	1.05	3 360	1.18
BK 560	2.2	0.64	3 280	0.90

Table 5. Comparison of grain yields of the seedling vigor synthetic ICMS 8153 with those of check cultivars WC-C75 and ICMS 7703 (field trials 1981)*.

Trial location	Grain yield (kg/ha)		
	ICMS 8153	WC-C75	ICMS 7703
Patancheru (low fertility)	1 880	2 430	1 970
Patancheru (high fertility)	3 630	3 600	3 670
Hissar	3 500	3 200	3 360
Mean	3 000	3 080	3 000

* Data courtesy of Dr. K.N. Rai, ICRI SAT.

subsequent evaluation at flowering and at maturity. In later generations, evaluation for seedling vigor can be carried out on a progeny row basis which is both rapid and simple.

LITERATURE CITED

1. KNEEBONE, W.R.; CREMER, C.L. 1955. The relationship of seed size to seedling vigor in some native grass species. *Agronomy Journal* 47:472-477.
2. KNEEBONE, W.R. 1956. Breeding for seedling vigor in sand bluestem (*Andropogon hollii* Hack.) and other native grasses. *Agronomy Journal* 48:37-40.
3. MAITI, R.K.; RAJU, P.S.; BIDINGER, F.R. 1981. Evaluation of visual scoring for seedling vigor in sorghum. *Seed Science and Technology* 9:613-622.
4. MAITI, R.K. 1986. Morfología, crecimiento y desarrollo del sorgo. México, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía. 419 p.
5. MAITI, R.K.; RAJU, P.S.; BIDINGER, F.R. 1990. Seedling vigor in pearl millet. I. Role of seed size. *Turrialba* 40:353-355.
6. TOSSELL, W.E. 1960. Early seedling vigor and seed weight in relation to breeding in smooth bromegrass *Bromus intermis* Lyss. *Canadian Journal of Plant Science* 40:268-280.

Clasificación Morfológica de 23 Cultivares de *Manihot esculenta* Crantz. del Subtrópico Húmedo Boliviano¹

J. Lennis*, A. Alvarado**, R. Vera***

ABSTRACT

Twenty three cassava accessions were collected from the humid subtropical lowlands of Bolivia. The material was planted at La Jota Experimental Station where 33 properties from leaves, stems and roots were measured. After codification using the IBPGR's system, a matrix was created and statistically analyzed using the multivariate statistics package developed by Kovack. The accessions were grouped using Manhattan, Euclidean, and Pearson distance coefficients, correlation coefficients, and main components techniques to form 12 different entries. These are kept at the experimental stations of the Bolivian Institute for Agricultural Technology. Similar cassava entries were always grouped together independently of the technique employed.

COMPENDIO

Se recolectaron 23 cultivares de *Manihot esculenta* en el subtrópico húmedo boliviano. El material fue plantado en la Estación Experimental La Jota donde se evaluaron 33 características de las hojas, tallos y raíces de yuca. Después de su codificación, según el sistema del *International Board for Plant Genetic Resources* (IBPGR), se creó una matriz y se analizó con el paquete de estadística multivariado, desarrollado por Kovack. Los cultivares se agruparon según los coeficientes de distancia, los coeficientes de similitud y las técnicas de componentes principales de Manhattan, Euclidean y Pearson hasta formar 12 entradas diferentes, conservadas en las estaciones experimentales del Instituto Boliviano de Tecnología Agropecuaria (IBTA). Siempre se agruparon las entradas similares de yuca, independientemente de la técnica usada.

INTRODUCCION

Las características botánicas de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz.) son muy variables, lo que indica un alto grado de hibridación intraespecífica; por lo tanto, existen numerosos cultivares de esta especie que se diferencian en sus caracteres morfológicos (3, 9).

La región del Chaparé cuenta con una amplia variabilidad clonal de yuca, la cual se identifica con una nomenclatura local adoptada por los agricultores. De esta manera, un mismo cultivar se denomina con varios nombres, o un mismo nombre es designado a cultivares diferentes, lo que complica y confunde la utilización del germoplasma. Este material requiere ser recolectado para estudios de caracterización, clasificación e identificación.

Las principales propuestas de descriptores para el estudio de las características y distinción de los cultivares de yuca provienen del *International Board for Plant Genetic Resources* (IBPGR) (5) y del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) (1), que establecen las normas

¹ Recibido para publicación el 24 de enero de 1990.
Parte de la tesis en agronomía del primer autor, presentada a la Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias de la Universidad Mayor de San Simón, Bolivia.

* Técnico en investigación de raíces y tubérculos tropicales.
** Asesor del Proyecto Instituto Boliviano de Tecnología Agropecuaria (IBTA)/Chaparé.
*** Técnico del Programa de Desarrollo Alternativo de Cochabamba.

internacionales para la codificación de los estados del carácter para cada órgano de la planta.

Los coeficientes de similitud de Manhattan, Euclideano y Pearson y los componentes principales en el análisis de agrupamiento de la taxonomía numérica, han demostrado ser eficientes en la formación de grupos de las unidades taxonómicas asociadas por su grado de similitud y sus relaciones en función de los caracteres empleados (2, 11).

El presente trabajo se realizó con los objetivos de caracterizar y clasificar los cultivares de yuca recolectados en el subtrópico húmedo boliviano, y de evaluar e identificar los cultivares de mayor rendimiento.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se llevó a cabo en la Estación Experimental La Jota, Chimore, a 16°57' de latitud Sur y 65°10' de longitud Oeste, con una altura de 225 metros sobre el nivel del mar. La zona ecológica corresponde al bosque subtropical muy húmedo (12). De acuerdo con los datos de 1960-1979, la temperatura media es de 24.5°C y la precipitación media anual es de 3317 milímetros.

En el Cuadro 1 se presentan los datos del número de entradas, el nombre local dado al germoplasma por los agricultores y el nombre del lugar de donde se recolectó el material vegetal (estacas), entre las latitudes 16°42' y 16°58' Sur y las longitudes 65°02' y 65°48' Oeste.

El material recolectado se sembró en un terreno con varios años de uso, en suelos de baja fertilidad (Cuadro 2). Las entradas se implantaron en parcelas distribuidas mediante el diseño estadístico de bloques completos al azar, con 23 tratamientos y cuatro repeticiones. La superficie de la unidad experimental fue de 25 m² (5 m x 5 m) y el área de la parcela efectiva fue de nueve metros cuadrados.

Durante el desarrollo del cultivo se realizaron carpidas manuales a los 35 d, 60 d y 92 d después de la siembra, y se aplicó el fertilizante 15-15-15 a razón de 150 kg/ha en la segunda etapa de la carpida.

Cuadro 1. Datos de entrada de 23 muestras de yuca de consumo humano recolectadas en el Chapare de áreas cultivadas.

No. de muestra	Nombre local	Localidad
1	Blanca	Santa Rosa (Chipiriri)
2	Suelakhara	Santa Rosa (Chipiriri)
3	Porvenir	Jatun Pampa
4	Amarilla	Bomborasama
5	Rosada	Bomborasama
6	Amarilla	Bomborasama
7	Blanca noventon	Bomborasama
8	Bobore	Bomborasama
9	Suelakhara grande	Eteramasama
10	Suelakhara chica	Eteramasama
11	Yuracare	Eteramasama
12	Blanca	Eteramasama
13	Blanquita	Villa General Roman
14	Amarilla	Villa General Roman
15	Blanca	Senda B (Chimore)
16	Quinsaquillero	Senda B (Chimore)
17	Noventon	Cesarsama
18	Tuna rosada	Cesarsama
19	Chaparral	Ivirgarsama
20	Blanca	Ivirgarsama
21	Tankhara	Jatun Pampa
22	Blanca	Jatun Pampa
23	Criolla	Jatun Pampa

Se caracterizó cada entrada en la colección, empleando 33 descriptores del IBPGR (5), entre ellos:

- . Vigor inicial de la planta.
- . Color y pubescencia del brote de la planta.
- . Color de las hojas, de las nervaduras y del pecíolo.
- . Forma de la hoja y número de lóbulos por hoja.
- . Longitud y distribución de pigmentación del pecíolo.
- . Longitud y ancho de las hojas.
- . Color y protuberancia del tallo.
- . Tiempo de aparición y altura de la primera ramificación.
- . Peso de tallos y hojas.

Cuadro 2. Características físico-químicas del suelo del área experimental.

Características	Profundidad (cm)	
	0-20	20-40
pH	4.5	4.5
Fósforo Bray-1 (pmm)	15.0	14.0
Materia orgánica (%)	4.8	2.4
Calcio (me/100 g)	1.0	1.0
Magnesio (me/100 g)	1.0	0.5
Sodio (me/100 g)	0.3	0.3
Potasio (me/100 g)	0.2	0.1
Total bases intercambiable	2.4	2.1
C.I.C. (me/100 g)	14.0	10.8
Saturación bases (%)	17.2	19.5
Al intercambiable (me/100 g)	2.9	3.80
Acidez intercambiable (me/100g)	3.1	3.9
Arcilla (%)	36.0	36.0
Arena (%)	26.0	22.0
Limo (%)	38.0	42.0

RESULTADOS Y DISCUSION

Análisis de agrupamiento

En las figuras 1, 2 y 3 se presentan los fenogramas que muestran las relaciones de similitud de las 23 entradas de yuca en función de los 33 caracteres empleados, obtenidos con los coeficientes de similitud de Manhattan, Euclideo y Pearson, respectivamente.

a) Método de Manhattan

El fenograma obtenido por este método, a un bajo nivel de similitud (inferior de 41.0), diferencia dos grandes grupos varietales de yuca, y los caracteres discriminantes son el color del tallo (8 - 10 meses) y el periderma de la raíz (Fig. 1). Cada uno de los grupos a niveles de similitud inferiores de 33.0 y 39.1, respectivamente, se divide en dos subgrupos, y el carácter discriminante es el color de las nervaduras de la hoja. A nivel de similitud, los subgrupos se dividen en siete conjuntos conformados por las entradas: 15, 16 y 17; 1 y 13; 5, 7 y 12; 3 y 21; 4 y 6; 2, 9 y 10; y 8, 18 y 19, y en cinco conjuntos individuales disímiles que corresponden a las entradas: 11, 14, 20, 22 y 23.

A este nivel de similitud, la entrada 11 es disímil del conjunto: 3 y 21, y los caracteres discriminantes son el color del brote de la planta, de las

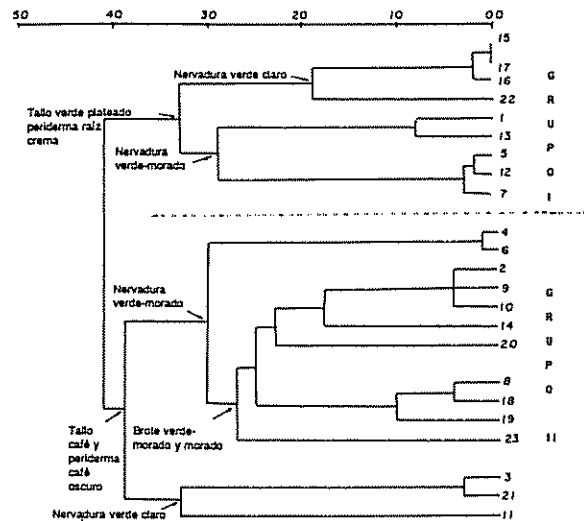


Fig. 1. Fenograma de las 23 OTU de yuca estudiadas, obtenido con base en la matriz de similitud de Manhattan.

hojas, del pecíolo y del tallo (Cuadro 3). Las entradas 14 y 20 son disímiles entre sí del conjunto: 2, 9 y 10, y los caracteres discriminantes son el color y la forma de las hojas, el color del tallo (8 - 10 meses), del periderma y de la pulpa de la raíz. La entrada 22 es disímil del conjunto: 15, 16 y 17 y los caracteres discriminantes son el color del brote de la planta y la forma de las hojas. La entrada 23 es disímil del conjunto: 8, 18 y 19, y el carácter discriminante es la forma de las hojas.

b) Método Euclideo

De acuerdo con el fenograma generado por este método, a un nivel de similitud inferior de 11.8, la entrada 11 es disímil de los dos grupos originados a un nivel de similitud inferior de 10.5, y el carácter discriminante es el color del pecíolo (Fig. 2). El primer grupo, a un nivel de similitud inferior de 10.3, diferencia dos subgrupos y el carácter discriminante es la forma de las hojas.

A nivel de similitud de 4.4, próximo al valor de la máxima similitud, se separan siete conjuntos conformados por las entradas: 15, 16 y 17; 1 y 13; 5, 7 y 12; 3 y 21; 4 y 6; 2, 9 y 10; y 8, 18, 19, y cinco conjuntos individuales disímiles correspondientes a las entradas: 11, 14, 20, 22 y 23.

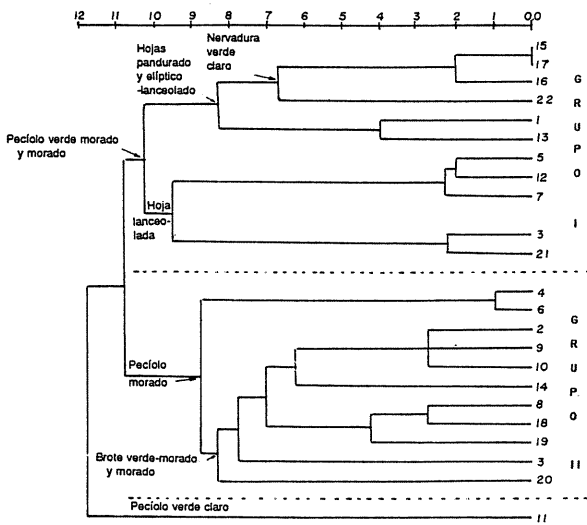


Fig. 2. Fenograma de las 23 OTU de yuca estudiadas, obtenido con base en la matriz de similitud Euclidean.

A este nivel de similitud, la entrada 14 es diferente del conjunto: 2, 9 y 10, y los caracteres discriminantes son el color de las hojas, del tallo (8 - 10 meses), del periderma y de la pulpa de la raíz. Las entradas 20 y 23 son disímiles entre sí del conjunto: 8, 18 y 19 y el carácter discriminante es la forma de las hojas. La entrada 22 es diferente del conjunto: 15, 16 y 17 y los caracteres discriminantes son el color del brote y la forma de las hojas (Cuadro 3).

c) Método de Pearson

Al igual que para el método Euclidean, a un nivel de similitud superior a 0.5, la entrada 11 se separa de los dos grupos originados a un nivel de similitud superior de 0.63 y el carácter discriminante es el color del pecíolo (Fig. 3). El primer grupo con un nivel de similitud superior de

Cuadro 3. Caracteres que discriminan la similitud de las entradas de yuca con índices superiores a 10.0, 4.4 y 0.97 por los métodos Manhattan, Euclidean y Pearson respectivamente.

Entradas	Color brote	Color hojas	Color pecíolo	Forma hoja	Color tallo	Color corteza raíz	Color pulpa raíz
Método Manhattan							
15-16-17	verde morado			Pandurado			
22	morado			Eliplanc			
2-9-10		verdeoscuro		Eliplanc	cafeoscuro	rosada	blanca
14		verdeintermedio		Eliplanc	cafeclaro	crema	amarilla
20		verdeoscuro		Lanceolado	cafeoscuro	crema	blanca
8-18-19				Pandurado			Pres.
23				LinearPand			Ause.
3-21	morado	verde oscuro	verde morado		cafeclaro		
11	verde claro	verde claro	verde claro		cafeoscuro		
Método Euclidean							
15-16-17	verde morado			Pandurado			
22	morado			Eliplanc			
2-9-10		verdeoscuro			cafeoscuro	rosada	blanca
14		verdeintermedio			cafeclaro	crema	amarilla
8-18-19				Pandurado			
23				LinPand			
20				Lanceolado			
Método Pearson							
1-13				Pandurado			
22				Eliplanc	cafeoscuro	rosada	
2-9-10		verdeoscuro		Eliplanc	cafeoscuro	rosada	blanca
8-18-19		verdeoscuro		Pandurado	cafeoscuro	crema	blanca
14		verdeintermedio		Eliplanc	cafeclaro	crema	amarilla
23		verde oscuro		LinearPand	cafeoscuro	crema	blanca
20		verde oscuro		Lanceolado	cafeoscuro	crema	blanca

Nota:

Pand = pandurado; Elipl. lanc. = Elíptico lanceolado; Lin.pand. = Linear pandurado.

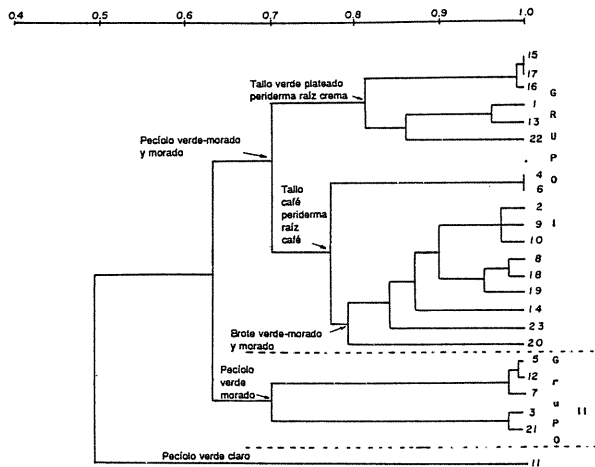


Fig. 3. Fenograma de las 23 OTU de yuca estudiadas, obtenido con base en la matriz de correlación de Pearson.

0.70 se divide en dos subgrupos, siendo los caracteres discriminantes el color del tallo (8 - 10 meses) y el periderma de la raíz. A un nivel de similitud de 0.97, valor próximo a la máxima similitud, se separan siete conjuntos conformados por las entradas: 15, 16 y 7; 1 y 13; 4 y 6; 2, 9 y 10; 8, 18 y 19; 5, 7 y 12; y 3 y 21, y cinco conjuntos individuales disímiles correspondientes a las entradas 11, 14, 20, 22 y 23.

A este nivel de similitud, las entradas 14, 20 y 23 son disímiles entre sí de los conjuntos: 2, 9 y 10 y 8, 18 y 19, y los caracteres discriminantes son el color de las hojas, la forma de éstas, el color del tallo (8 - 10 meses), del periderma y de la pulpa de la raíz. La entrada 22 es disímil del conjunto: 1 y 13, y el carácter discriminante es la forma de las hojas.

Análisis de los componentes principales

En el Cuadro 4 se presenta el valor-"eigen" de cada uno de los componentes principales (valor que representa la sumatoria de las variancias de todos los caracteres para cada componente principal); el porcentaje de variación expresado por ese valor-"eigen" y la acumulación de los porcentajes a medida que se extraen los componentes principales hasta llegar al 100 por ciento.

Los 20 componentes generados acumularon el total de la variación de las entradas, de los cuales los

Cuadro 4. Componentes principales, valor "eigen", porcentaje de variación y porcentaje acumulado obtenido de la matriz de correlación.

Número del componente	Valor-"eigen"	Porcentaje de variación total	Porcentaje acumulado
1	16.62	72.27	72.27
2	1.70	7.41	79.68
3	1.25	5.43	85.11
4	1.14	4.94	90.05
5	0.61	2.65	92.70
6	0.44	1.98	94.68
7	0.37	1.63	96.31
8	0.26	1.11	97.42
9	0.17	0.76	98.18
10	0.10	0.46	98.64
11	0.09	0.40	99.04
12	0.08	0.34	99.38
13	0.05	0.21	99.59
14	0.04	0.16	99.75
15	0.03	0.11	99.86
16	0.02	0.07	99.93
17	0.01	0.03	99.96
18	0.00	0.02	99.98
19	0.00	0.01	99.99
20	0.00	0.01	100.00

tres primeros componentes expresaron el 85.11% de la variación y fueron elegidos para elaborar la Figura 4.

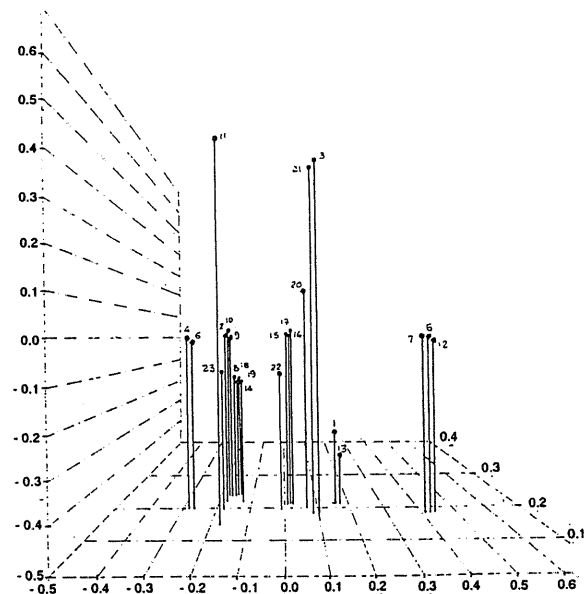


Fig. 4. Análisis de los componentes principales constituidos por 23 OTU. Proyección tridimensional de las OTU en los tres primeros componentes: 1, 2 y 3. Esta representación expresa el 85.11% de la variación total.

En el Cuadro 5 se muestra la contribución de cada OTU (entrada) a los tres primeros componentes principales. Con base en estos valores en el espacio tridimensional, delimitado por estos componentes (Fig. 4), se ubicaron las entradas, facilitando la representación de ellas y sus relaciones en función de los caracteres empleados.

Las relaciones entre entradas (Fig. 4) están reflejadas en la posición en que se disponen en ese espacio. Cuanto más cerca se encuentran entre sí las entradas, más estrechamente relacionadas están, como lo muestran las entradas: 15, 16 y 17; 1 y 13; 5, 7 y 12; 4 y 6; 2, 9 y 10; 2, 21 y 8, 18 y 19. De este último grupo se encuentra menos distante la entrada 14 y más alejada la entrada 23. Las entradas 20 y 22 están aisladas entre sí de los grupos: 15, 16 y 17. La entrada 11 se encuentra aislada significativamente de las demás.

Cuadro 5. Valores de contribución de cada una de las 23 OTU de yuca a los tres primeros componentes principales.

OTU	Componente 1	Componente 2	Componente 3
1	0.21	0.16	-0.29
2	0.22	0.18	0.00
3	0.19	0.10	0.49
4	0.20	0.20	-0.04
5	0.19	0.42	-0.02
6	0.20	-0.29	-0.04
7	0.19	0.41	-0.01
8	0.23	-0.15	-0.12
9	0.22	-0.15	0.00
10	0.22	-0.15	0.01
11	0.15	-0.18	0.51
12	0.19	0.43	-0.02
13	0.21	0.17	-0.31
14	0.22	-0.12	-0.13
15	0.22	0.06	-0.01
16	0.22	0.08	0.03
17	0.22	0.06	0.01
18	0.22	-0.17	-0.14
19	0.23	-0.12	-0.11
20	0.20	0.07	0.12
21	0.19	0.09	0.47
22	0.20	-0.01	-0.10
23	0.20	-0.16	-0.07

Relación entre técnicas utilizadas

Los tres coeficientes de similitud en los análisis de agrupamiento y los componentes principales permitie-

ron obtener resultados gráficos diferentes. Sin embargo, por cualquiera de las técnicas empleadas, cuando los niveles de similitud fueron altos (Manhattan = 10.0, Euclideo = 4.4 y Pearson = 0.94), así como los tres componentes principales (aporte del 85.11% de la variabilidad), se logró la mayor similitud y/o relación de las entradas: 15, 16 y 17; 1 y 13; 5, 7 y 12; 4 y 6; 2, 9 y 10; 8, 18 y 19; 3, 21, y disimiles entre sí las entradas 11, 14, 20, 22 y 23. La ventaja de la utilización de más de una técnica permitió minimizar los efectos metodológicos y los resultados surgieron de la complementación de las técnicas comparadas.

A todos los caracteres se les asignó la misma significación e importancia en los análisis de agrupamiento y componentes principales. Sin embargo, en el análisis visual de los fenogramas, se consideraron de mayor significación los caracteres discriminatorios cualitativos, debido a que éstos permitieron diferenciar e identificar los cultivares con más claridad y facilidad cuando los cultivares de yuca se encuentran en colección viva que los caracteres cuantitativos, y que éstos están más condicionados por el medio en que se desarrolla el cultivo (3, 4, 7, 8, 10).

Duplicados en la colección

Utilizando los coeficientes de similitud de Manhattan, Euclideo y Pearson en los análisis de

Cuadro 6. Agrupamientos de entradas por la similitud de sus caracteres morfológicos de la hoja, tallo y raíz.

Entradas muy similares	Nombre propuesto*
1 Blanca = 13 Blanquita	= M bol 1
2 Suelakhara = 9 Suelakhara grande = 10 Suelakhara chica	= M bol 2
3 Porvenir = 21 Tankhara	= M bol 3
4 Amarilla = 6 Amarilla	= M bol 4
5 Rosada = 7 Blanca noventon = 12 Blanca	= M bol 5
11 Yuracare	= M bol 6
14 Amarilla	= M bol 7
15 Blanca = 16 Quinsaquillero = 17 Noventon	= M bol 8
18 Una rosada = 19 Chaparral = 8 Bobore	= M bol 9
20 Blanca	= M bol 10
22 Blanca	= M bol 11
23 Criolla	= M bol 12

* M bol = *Manihot* boliviana.

agrupamiento y los tres componentes principales con 33 caracteres por entradas, las 23 entradas se agruparon en 12 cultivares (Cuadro 6). Con el objetivo de facilitar la utilización del germoplasma se propone una nomenclatura similar a la usada en otros centros de investigación.

CONCLUSIONES

Considerando los resultados del análisis desarrollado en el presente estudio, se establecen las siguientes conclusiones:

1. Mediante un análisis de agrupamiento a altos niveles de similitud de Manhattan de 10.0, Euclideo de 4.4 y Pearson de 0.94, y tomando en cuenta 33 caracteres por entrada, las 23 entradas se agruparon en 12 cultivares.
2. El método de componentes principales consolidó los 12 grupos de cultivares logrados en los métodos anteriores y mostró que los tres primeros componentes principales aportaron el 85.1% de la variabilidad.
3. Los caracteres discriminatorios de tipo cualitativo se consideraron de más utilidad en las disimilitudes establecidas entre las entradas, debido a que permitieron diferenciar e identificar los cultivares con más claridad y facilidad cuando se encuentran en colección viva que los caracteres cuantitativos, y que están más condicionados por el medio en que se desarrolla el cultivo.

LITERATURA CITADA

1. CATIE (CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA). 1981. Catálogo de la colección de yuca (*M. esculenta* Crantz.) del CATIE. Turrialba, C.R. Serie Técnica. Boletín Técnico no. 2. 40 p.
2. CRISCI, J.V.; LOPEZ, F. 1983. Introducción a la práctica de la taxonomía. Washington, D.C., OEA. Monografía no. 26. Serie de Biología. 119 p.
3. CIAT (CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL). 1981. Morfología de la planta de yuca: Guía de estudio para ser usada como complemento de la unidad audiotutorial sobre el mismo tema. Cali, Col. Serie 04sd-02-03. 44 p.
4. DOMINGUEZ O., C.E.; CEBALLOS, L.F. 1979. Clasificación taxonómica y morfología de la planta de yuca (*M. esculenta*). Cali, Col., CIAT. 10 p.
5. GULICK, P.; HERSHEY, C.; ESQUINAS, A.J. 1983. Genetic resources of cassava and wild relatives. Roma, International Board for Plant Genetic Resources. 56 p.
6. KOVACH, W.L. 1985. A multivariate statistics package for the IBM PC and compatibles. Bloomington, Indiana University. 10 p.
7. LEITAO FILHO, H.F. 1971. Caracterização botânica de cultivares de mandioca (*M. esculenta*). Instituto Agronômico. 29 p.
8. LEON, J. 1968. Fundamentos de los cultivos tropicales. San José, C.R.; IICA. 577 p.
9. LIAN, T.S. 1982. Utilization of genetic resources in cassava breeding programmes. In Genetic resources and the plant breeder. R.B. Sinh, N. Chomchalow. Rome, International Board for Plant Genetic Resources, Southeast Asian Programme. p. 69-78.
10. MONTALDO, A. 1979. La yuca o mandioca. San José, C.R., IICA. Serie Libros y Materiales Educativos no. 38. 386 p.
11. SNEATH, P.H.A.; SOKAL, R.R. 1973. Numerical taxonomy: The principle and practice of numerical classification. San Francisco, USA, W.H. Freeman. 573 p.
12. TOSI, J. 1983. Análisis ecológico y capacidad de uso de la tierra en el área del Proyecto Chapare. Informe USAID/Bolivia. La Paz, Bol. 48 p.

Comunicación

Influencia de los Niveles de Hierro en la Absorción de Manganeso por Plantas de Soja¹

E.O. Leidi*, M. Gómez*

ABSTRACT

The uptake of manganese was studied in Mn-sensitive and Mn-tolerant soybean cultivars grown over a range of Fe and Mn supplies in solution culture. The Fe levels in solution affected both Mn concentration and content in all the plant parts analyzed. The decrease of Mn concentration by the increase in Fe supply was more important at high Mn levels in solution, although certain differences between cultivars were observed. Antagonism and a dilution effect caused by the enhancement of growth by increasing Fe levels could explain the changes in plant Mn levels registered.

COMPENDIO

Se estudió la absorción de Mn en cultivares de soja sensibles y tolerantes al exceso de Mn, empleando distintos niveles de Fe y Mn en solución nutritiva. Los niveles de Fe afectaron la concentración y el contenido de Mn en todas las partes analizadas. La disminución de la concentración de Mn por el incremento en el suministro de Fe fue más importante en condiciones de altos niveles de Mn en solución, aunque se observaron algunas diferencias entre cultivares. Los cambios en los niveles de Mn en las plantas podrían explicarse por antagonismo y por un efecto de dilución debido a la mejora del crecimiento, producida por el aumento del nivel de hierro.

INTRODUCCION

La importancia de la relación entre los nutrientes Fe y Mn para el crecimiento óptimo de plantas de soja se ha reconocido desde los trabajos de Somers y Shive (15). Se ha señalado que en lino se da una interacción entre la absorción de Fe y Mn y los genótipos vegetales (13).

El incremento de concentración de Fe en el medio nutritivo produce la disminución de la absorción de Mn en soja (14). Este fenómeno también ha sido observado en distintas especies como trébol rojo (*Trifolium pratense* L.) (8), *Juncus effusus* L. (5) y judía (10). En tomate, se registró un incremento en la

absorción y transporte de Mn a bajas concentraciones de Fe. Sin embargo, con altos niveles de Fe en solución, el Mn absorbido permanecía acumulado en la raíz. Estos resultados contrastan con los de Kohno y Foy (10), quienes indicaron que en judía el incremento en concentración de Fe reducía la absorción radical de Mn pero no inhibía su transporte a la parte aérea. Se ha señalado que altos niveles de Fe disminuyen la concentración de Mn en plantas de soja del cultivar Bragg, probablemente, debido a una reducción en la tasa de absorción de Mn, a su retención en las raíces o a ambos fenómenos. Recientemente, Baxter y Osman (1) observaron que las aplicaciones de Fe EDDHA al suelo, redujeron la concentración de Mn en los cuatro cultivares de soja que analizaron.

1 Recibido para publicación el 10 de marzo de 1989.

* U.E.I. Fisiología Vegetal; Estación Experimental del Zaidín; Granada, España.

En este trabajo se pretendió determinar la magnitud de la influencia del Fe en la absorción de

Mn desde concentraciones de deficiencia a exceso, empleando cultivares de soja con distinto comportamiento a los niveles de Mn.

MATERIALES Y METODOS

Semillas de soja (*Glycine max* (L.) Mer.) de cultivares tolerantes (Lee, T-203) o sensibles (Bragg, Forrest y Williams) al exceso de Mn (3, 12) se hicieron germinar a 28°C en placas de Petri humedecidas con SO₄Ca 0.5 mM. A las 72 horas se seleccionaron plántulas por uniformidad de longitud radicular y se trasplantaron a soluciones nutritivas con la siguiente composición (mM): N, 10; P, 0.16; S, 2; K, 5; Ca, 4.5; Mg, 1.5; (μ M): B, 46.2; Cu, 0.8; Zn, 0.8; Mo, 0.05. El pH inicial fue 5.5. Se suministró aereación continua por borboteo. Los tratamientos consistieron en tres niveles de Mn (0.0, 1.8 y 91.0

μ M) (SO₄Mn.H₂O) combinados con tres niveles diferentes de Fe (4.5, 17.9 y 44.8 μ M) (Fe EDDHA).

Al cabo de dos semanas de cultivo en cámara de crecimiento (ciclos de 14 h luz/10 h oscuridad, 30°C - 20°C, 60% - 80% humedad relativa, radiación fotosintéticamente activa 390 μ E.s⁻¹.m⁻²), las plantas alcanzaron el estado vegetativo V3 (6), momento elegido para el muestreo. Las plantas se fraccionaron en: primer par de hojas simples, primera y segunda trifolioladas, tallos (incluyendo pecíolos) y raíces. Las raíces se lavaron con tres inmersiones en agua desmineralizada. Todo el material vegetal se colocó en estufa de aire forzado a 70°C durante 48 horas. Luego se determinó el peso seco y se llevaron a cabo análisis químicos. El análisis de la concentración de Mn en las distintas fracciones se realizó por espectrofotometría de absorción atómica de las muestras mineralizadas por calcinación y digestión en C1H

Cuadro 1. Concentración y contenido de manganeso en el primer par de hojas simples de variedades de soja cultivadas con diferentes niveles de Mn y Fe.

Tratamientos (μ M)		Concentración de Mn (μ g/g)				
Mn	Fe	Bragg	Lee	Forrest	T-203	Williams
0.0	4.5	33.6	27.5	24.6	15.2	22.8
0.0	17.9	17.9	16.2	18.5	15.5	19.8
0.0	44.8	18.5	19.3	20.8	13.7	18.8
1.8	4.5	77.3	107.7	99.9	77.6	105.8
1.8	17.9	61.4	61.0	108.7	54.5	59.8
1.8	44.8	61.1	46.4	61.8	38.6	52.9
91.0	4.5	921.9	1112.1	856.5	352.3	934.4
91.0	17.9	673.2	888.9	707.7	431.6	920.4
91.0	44.8	408.0	499.8	501.0	378.8	615.1
MDS _{0.05}		5.65				
		Contenido de Mn (μ g/órgano)				
0.0	4.5	2.7	1.9	1.6	2.2	2.4
0.0	17.9	1.8	1.4	1.4	2.1	2.1
0.0	44.8	1.8	1.8	1.8	1.8	2.1
1.8	4.5	9.9	10.6	7.7	11.3	12.5
1.8	17.9	6.9	6.0	9.0	7.8	8.0
1.8	44.8	7.2	4.5	5.0	5.9	6.8
91.0	4.5	65.8	82.9	63.4	51.1	103.3
91.0	17.9	62.7	67.5	51.7	49.1	101.2
91.0	44.8	34.8	37.4	36.9	45.5	63.0
MDS _{0.05}		5.21				

concentrado (4). Las determinaciones se efectuaron tres veces. El análisis de la variancia se efectuó sobre datos transformados $\ln(x + 1)$.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los niveles de Fe suministrados en las soluciones nutritivas se relacionaron positivamente con el peso seco de hojas y tallos en los cultivares Bragg, Forrest, T-203 y Williams, pero no existió tal relación para el cultivar Lee (datos no presentados).

Los valores de concentración y contenido de Mn para los distintos tejidos de los cultivares de soja estudiados se presentan en los cuadros 1 a 5. En las tres hojas muestreadas (primer par simple, y primera y segunda trifolioladas), procedentes de diferentes niveles y con distinto estado de crecimiento, el incremento de Fe en la solución disminuyó la concentración de manganeso. Sólo los cultivares Forrest en condiciones de suministro medio de Mn, y T-203

con un nivel alto del mismo nutrimento, presentaron concentraciones superiores de Mn al incrementarse el nivel de Fe de 4.5 a 17.9 μM . El efecto más pronunciado de disminución de concentración de Mn, por aumento en el nivel de Fe externo, se registró en condiciones de alta concentración de Mn en solución. En esta misma situación, el cultivar Lee alcanzó las mayores concentraciones foliares de Mn, mientras que T-203 presentó las mínimas. Considerándose a ambos cultivares como tolerantes al exceso de Mn, sólo el cultivar T-203 respondería con la estrategia de las especies "excluyentes" (7, 17). El cultivar Lee, por su parte, presentaría otros mecanismos de resistencia al exceso de Mn (2, 11).

En situaciones de deficiencia de Mn, el incremento de Fe determinó una aparente mejoría en la redistribución del Mn disponible en el primer par de hojas simples. Sin embargo, las diferencias en concentración de Mn entre cultivares y la ausencia de diferencias claras entre hojas superiores no permiten confirmar la hipótesis.

Cuadro 2. Concentración y contenido de manganeso en la primera hoja trifoliolada de variedades de soja cultivadas con diferentes niveles de Mn y Fe.

Tratamientos (μM)		Concentración de Mn ($\mu\text{g/g}$)					
Mn	Fe	Bragg	Lee	Forrest	T-203	Williams	
0.0	4.5	15.8	18.6	15.0	12.5	17.2	
0.0	17.9	14.4	11.0	14.0	9.7	15.3	
0.0	44.8	12.4	14.3	16.3	12.8	13.7	
1.8	4.5	56.8	69.2	58.9	61.7	60.9	
1.8	17.9	52.0	52.6	64.2	51.1	43.0	
1.8	44.8	53.0	38.2	54.9	33.5	36.1	
91.0	4.5	846.8	1179.5	706.7	286.6	815.7	
91.0	17.9	624.1	868.9	665.1	472.7	816.0	
91.0	44.8	324.8	407.3	389.8	291.1	435.4	
MDS _{0.05}			7.93				
		Contenido de Mn ($\mu\text{g}/\text{órgano}$)					
0.0	4.5	1.5	1.5	0.9	1.5	1.7	
0.0	17.9	1.6	0.8	1.3	1.1	1.8	
0.0	44.8	1.5	1.2	1.6	1.7	1.7	
1.8	4.5	8.0	7.7	6.5	6.7	10.4	
1.8	17.9	6.3	6.3	7.1	8.8	8.1	
1.8	44.8	6.9	4.5	6.1	6.1	6.4	
91.0	4.5	38.8	79.5	26.0	35.1	62.1	
91.0	17.9	66.7	71.1	66.2	55.0	110.6	
91.0	44.8	28.0	32.4	39.8	43.7	57.2	
MDS _{0.05}			5.58				

Cuadro 3. Concentración y contenido de manganeso en la segunda hoja trifoliolada de variedades de soja cultivadas con diferentes niveles de Mn y Fe.

Tratamiento (μM)		Concentración de Mn ($\mu\text{g/g}$)					
Mn	Fe	Bragg	Lee	Forrest	T-203	Williams	
0.0	4.5	11.0	15.5	15.9	11.9	13.3	
0.0	17.9	10.5	11.0	16.3	10.4	13.5	
0.0	44.8	10.5	10.5	17.1	14.0	11.6	
1.8	4.5	53.4	73.6	59.2	55.8	50.9	
1.8	17.9	52.7	59.7	60.2	35.7	37.4	
1.8	44.8	43.8	36.1	43.7	29.1	29.5	
91.0	4.5	1 013.4	1 182.1	993.4	257.9	998.0	
91.0	17.9	621.6	1 007.5	588.8	407.6	553.1	
91.0	44.8	286.9	358.1	346.4	247.5	393.0	
MDS _{0.05}		5.09					
		Contenido de Mn ($\mu\text{g}/\text{organo}$)					
0.0	4.5	0.8	1.1	0.7	0.4	0.9	
0.0	17.9	0.8	0.7	1.1	0.4	1.2	
0.0	44.8	0.8	0.7	1.3	1.2	0.8	
1.8	4.5	4.0	5.9	4.5	1.6	5.9	
1.8	17.9	4.1	5.1	4.6	4.6	4.4	
1.8	44.8	3.6	3.2	3.2	3.8	3.4	
91.0	4.5	36.8	78.7	30.9	11.5	33.6	
91.0	17.9	45.9	66.1	44.9	28.7	64.6	
91.0	44.8	19.0	22.6	24.9	23.7	34.7	
MDS _{0.05}		6.34					

Los contenidos de Mn en hojas disminuyeron debido a los aumentos de concentración de Fe en los tratamientos con niveles medio y alto de manganeso.

En los tallos y raíces (Cuadros 4 y 5), los incrementos de Fe produjeron efectos semejantes sobre los valores de concentración y contenido de manganeso. En raíces destaca la proporción de Mn retenida por los cultivares y la diferencia de respuesta a los incrementos iniciales de Fe (de 4.5 a 17.9 μM). En los cvs. Bragg y Forrest se observó un aumento de concentración y contenido, efecto que no se detectó en los restantes cultivares. Las diferencias de concentración entre cultivares fueron importantes. El cultivar T-203 presentó la mayor acumulación de Mn en raíces con el suministro más elevado de hierro. Se ha señalado una menor concentración de Mn en las raíces del cultivar Bragg para tratamientos similares, debido probablemente al efecto de una solución e intercambio iónico empleada antes de secar el material.

Considerando los efectos generales del nivel de Fe en solución sobre el crecimiento y la concentración y contenido de Mn, según la terminología propuesta por Jarrell y Beverly (9), éstos serían de antagonismo en la absorción de Mn para los casos donde no se dieron cambios significativos de crecimiento, y un efecto de dilución del Mn absorbido cuando la disminución en concentración y contenido del elemento podrían atribuirse a una mejoría del crecimiento. Los resultados expuestos hacen pensar que ambos efectos ocurrieron simultáneamente, si bien debe destacarse la existencia de respuestas particulares de algunos cultivares con determinados niveles de Mn en solución.

No se puede descartar, en condiciones de bajo suministro de Fe, el posible estímulo de la absorción de Mn por el mecanismo de respuesta al estrés de Fe por los cultivares Fe-eficientes, como se ha indicado en girasol (16). Se ha observado que incrementando los niveles de Fe y disminuyendo los de Mn se producía una disminución en la tasa de absorción de Mn

Cuadro 4. Concentración y contenido de manganeso en tallos de variedades de soja cultivadas con diferentes niveles de Mn y Fe.

Tratamiento (μM)		Concentración de Mn ($\mu\text{g/g}$)					
Mn	Fe	Bragg	Lee	Forrest	I-203	Williams	
0.0	4.5	8.9	8.2	9.9	9.8	17.4	
0.0	17.9	5.5	6.4	9.9	8.3	7.8	
0.0	44.8	7.6	7.7	10.4	10.4	9.1	
1.8	4.5	22.3	27.6	25.3	38.4	23.8	
1.8	17.9	25.5	24.6	25.2	20.5	17.5	
1.8	44.8	23.3	21.1	17.6	16.3	15.5	
91.0	4.5	496.9	460.9	659.6	147.2	545.0	
91.0	17.9	253.6	342.1	247.8	200.6	202.3	
91.0	44.8	120.9	140.6	157.7	121.9	161.7	
MDS _{0.05}		3.53					
		Contenido de Mn ($\mu\text{g}/\text{órgano}$)					
0.0	4.5	1.9	1.8	1.0	1.4	2.7	
0.0	17.9	1.6	1.6	1.6	1.1	1.7	
0.0	44.8	1.6	1.8	1.8	2.0	1.5	
1.8	4.5	3.8	5.1	4.0	4.2	5.4	
1.8	17.9	4.1	4.9	4.1	3.9	4.1	
1.8	44.8	4.2	4.1	2.6	3.0	3.2	
91.0	4.5	61.0	87.2	55.0	18.2	68.6	
91.0	17.9	74.3	59.5	42.6	28.8	50.8	
91.0	44.8	19.9	25.9	25.0	19.2	31.2	
MDS _{0.05}		7.12					

Cuadro 5. Concentración y contenido de manganeso en raíces de variedades de soja cultivadas con diferentes niveles de Mn y Fe.

Tratamiento (μM)		Concentración de Mn ($\mu\text{g/g}$)					
Mn	Fe	Bragg	Lee	Forrest	I-203	Williams	
0.0	4.5	7.6	15.5	13.7	9.9	8.6	
0.0	17.9	7.7	7.9	8.7	5.7	7.8	
0.0	44.8	5.8	6.6	7.9	7.9	6.4	
1.8	4.5	200.5	187.0	202.0	127.4	146.9	
1.8	17.9	231.2	178.8	180.3	98.4	134.6	
1.8	44.8	203.8	132.8	111.8	81.7	95.9	
91.0	4.5	4 448.8	4 356.1	4 042.0	3 222.9	3 232.0	
91.0	17.9	4 569.5	2 640.2	7 561.6	2 828.1	2 421.9	
91.0	44.8	1 332.1	1 647.4	3 061.4	3 494.9	1 735.7	
MDS _{0.05}		10.06					

Continuación Cuadro 5.

Tratamiento (μM)		Contenido de Mn ($\mu\text{g}/\text{órgano}$)				
Mn	Fe	Bragg	Lee	Forrest	T-203	Williams
0.0	4.5	0.8	1.5	1.1	1.6	7.0
0.0	17.9	1.0	0.7	0.9	1.0	1.1
0.0	44.8	0.8	0.7	0.9	1.2	0.9
1.8	4.5	24.0	21.9	24.4	21.3	24.7
1.8	17.9	26.4	20.0	18.8	18.5	23.3
1.8	44.8	24.4	15.8	11.9	15.6	14.5
91.0	4.5	343.9	402.3	309.1	584.2	370.9
91.0	17.9	532.2	226.1	842.3	453.7	421.8
91.0	44.8	116.8	156.8	279.6	528.2	245.3
MDS _{0.05}			22.79			

por plantas de soja del cv. Bragg. En general, nuestros resultados coinciden con los de otros autores, en cuanto a la depresión en la concentración de Mn en los tejidos a causa del aumento en el nivel de Fe externo. Sin embargo, debe tenerse en cuenta la diferencia de respuesta entre cultivares.

El Fe puede interferir en la absorción de Mn por mecanismos de competencia por los sitios de absorción, pero, este fenómeno no resulta específico y excluyente según el nivel de Mn o el cultivar considerado. De existir un antagonismo específico, la reducción de absorción de Mn en condiciones de suministro medio del mismo nutriente habría sido más importante. Al menos en situaciones de exceso de Mn en el medio, parte de la disminución en concentración y contenido de Mn foliar puede explicarse por un efecto de dilución, al mejorar la tasa de crecimiento con el aumento en el nivel de Fe externo.

LITERATURA CITADA

- BAXTER, J.C.; OSMAN, M. 1988. Evidence for the existence of different uptake mechanisms in soybean and sorghum for iron and manganese. *J. Plant Nutrition* 11:51-64.
- BROWN, J.C.; DEVINE, I.E. 1980. Inheritance of tolerance or resistance to manganese toxicity in soybeans. *Agronomy Journal* 72:898-904.
- BROWN, J.C.; JONES, W.E. 1977. Fitting plants nutritionally to soils. I. Soybeans. *Agronomy Journal* 68:399-404.
- CHIAF. 1973. Méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux: Détermination des éléments Ca, Mg, Fe, Mn, Zn et Cu par absorption atomique. *Oléagineux* 28:87-92.
- CHYNNERY, L.E.; HARDING, C.P. 1980. The effect of ferrous iron on the uptake of manganese by *Juncus effusus* L. *Annals of Botany* 46:409-412.
- FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. 1977. Stages of soybean development. Iowa State University, Coop. Extension Service Agric. Home Econom. Exp. Station. Science Technology Special Report 80.
- FOY, C.D. 1983. The physiology of plant adaptation to mineral stress. *Iowa State Journal of Research* 57:355-391.
- HANGER, B.C. 1965. The influence of iron upon the toxicity of manganese, molybdenum, copper, and boron in red clover (*Trifolium pratense* L.). *Journal of the Australian Institute of Agricultural Science* 31:315-317.
- JARRELL, W.M.; BEVERLY, R.B. 1981. The dilution effect in plant nutrition studies. *Advances in Agronomy* 34:197-224.
- KOHNO, Y.; FOY, C.D. 1983. Manganese toxicity as affected by concentration of manganese and iron in the nutrient solution. *J. Plant Nutrition* 6:363-386.

11. LEIDI, E.O.; GOMEZ, M. 1985. Estudio de la nutrición ferro-manganesica (*Glycine max* (L.) Merr.): Diferencias de comportamiento de ciertos indicadores bioquímicos entre cultivares. In International Colloquium for the Optimization of Plant Nutrition (6.). Actes Proceedings. P. Martin-Prevel (Ed). Montpellier, France, AIONP/GERDAT. v. 4. p. 1079-1084.
12. LEIDI, E.O.; GOMEZ, M. 1987. Efecto de los niveles de Fe y Mn sobre el crecimiento de distintos cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merr.). An. Edaf. Agrobiology 45:189-198.
13. MORAGHAN, J.I.; RALOWICZ, P. 1979. Relative responses of four flax differential lines to FeEDDHA. Crop Science 19:9-11.
14. ROMNEY, E.M.; TOTH, S.J. 1954. Plant and soil studies with radioactive manganese. Soil Science 77:107-117.
15. SOMERS, I.I.; SHIVE, J.W. 1942. The iron-manganese relation in plant metabolism. Plant Physiology 17:582-602.
16. VENKATRAJU, K.; MARSCHNER, H. 1981. Inhibition of iron-stress reactions in sunflower by bicarbonate. Zeitschrift fuer Pflanzenernahrung und Bodenkunde 144:339-355.
17. WOOLHOUSE, H.W. 1983. Toxicity and tolerance in the responses of plant to metals. In Encyclopedia of Plant Physiology: Physiological Plant Ecology. III. Responses to the Chemical and Biological Environment. O.L. Lange, C.B. Osmond, H. Ziegler (Eds.). Berlin, Springer-Verlag. v. 12C, p. 245-300.