

TURRIALBA

REVISTA INTERAMERICANA DE CIENCIAS AGRICOLAS

VOLUMEN 38

TRIMESTRE ENERO-MARZO 1988

NUMERO 1

CODEN: TURRAB 38(1)1-59

Desarrollo y reproducción de tres poblaciones de <i>Meloidogyne exigua</i> Goeldi, 1887, en cafeto, cv. Catuai. N. Morera, R. López	1
Relationships between size, conformation and reproductive traits in West African Dwarf ewes. C. Tizikara, O. Chiboka	6
Epidemiología de nematodos gastroentéricos de ovinos en zonas áridas de Venezuela L.A. Pino, G. Morales, L. Perdomo, E. Aldana	13
Effects of shifting cultivation on a tropical rain forest soil in southwestern Nigeria. A.O. Aweto	19
Estudios fenológicos en malezas de arrozales cultivados en Chile central. J. San Martín, D. Contreras, C. Ramírez	23
Observações na microsporogênese de <i>Coffea eugenioides</i> Moore com número de cromossomos duplicado. Y.M.S. Boaventura, N.D. da Cruz, C.R.B. Gomes	31
Nuevas observaciones sobre la distribución espacial de nematodos parásitos del arroz (<i>Oryza sativa</i> L.) en Costa Rica. R. López	39
Efecto del nivel de manganeso en la absorción de hierro por diferentes variedades de soya. E.O. Leidi, M. Gómez	45
Variação estacional da concentração do molibdênio nos nódulos e demais partes da planta de feijoeiro (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.). J. Jacob-Neto, R.J. Thomas, A.A. Franco	51
Inhibition of growth and interference with ¹⁴ C-leucine uptake and incorporation into protein in non-chlorophyllaceous sugarcane cells by ametryn. N. Ochoa-Alejo, O.J. Crocomo	59
Reseña de Libros	63, 64
Notas y Comentarios	64, 65



INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA

San José, Costa Rica

CR ISSN 0041 - 4360

Desarrollo y Reproducción de Tres Poblaciones de *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, en Cafeto, cv. Catuai¹

N Morera*, R. López**

ABSTRACT

The development and reproduction of three *Meloidogyne exigua* populations on coffee (*Coffea arabica* L.) cv. Catuai, was studied under greenhouse conditions. Plants were inoculated with 15 000 eggs and/or second stage juvenils (J₂) of each population collected at San Luis de Santo Domingo, Heredia province (SL), La Isabel de Turrialba, Cartago province (LI) and Sarchí de Valverde Vega, Alajuela province (S), Costa Rica. Forty days after inoculation the number of galls/plant and their diameter were significantly higher in plants inoculated with S than in those with SL, while plants inoculated with LI had intermediate values. No significant differences among populations were found regarding total number of nematodes/gall, number of J₂/gall and number of eggs/plant. Eighty days after inoculation plants inoculated with S and LI had significantly higher number of galls/plant, total number of nematodes/gall and J₂/gall than those inoculated with SL. The S population had the largest galls and the highest number of eggs/plant. No significant differences among populations were found regarding the number of females/gall. Population LI had the highest reproduction rate although not significantly different from the other two. No significant differences among populations were found in any of the two evaluation dates regarding plant height, dry weight, fresh root weight and leaf area.

INTRODUCCION

Entre los nematodos que atacan al cafeto, la especie *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, es la de mayor distribución geográfica y la que más comúnmente se asocia a éste cultivo en los países de Centro y Sur América (7, 18). Se ha encontrado que este nematodo puede ocasionar la reducción del crecimiento de las plantas en el vivero y en el campo, así como pérdidas significativas en la producción (1, 2).

Existe evidencia de que esta especie de nematodo posee razas fisiológicas Curi *et al.* (6) hicieron observaciones en cafetales de Brasil infectados por distin-

1 Recibido para publicación el 8 de julio de 1987. Parte de una tesis presentada por el primer autor como requisito parcial para optar al grado de M Sc en el Programa de Posgrado UCR/CATIE en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales. Los autores agradecen la ayuda y financiamiento del PROMECAFE y del Laboratorio de Fisiología Vegetal del CATIE

* PROMECAFE, CATIE, Turrialba, Costa Rica.

** Laboratorio de Nematología, Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica, San José. Beneficiario del CONICIT de Costa Rica.

COMPENDIO

Bajo condiciones de invernadero se estudió el desarrollo y la reproducción de tres poblaciones de *Meloidogyne exigua* en cafeto (*Coffea arabica*), cultivar Catuai. Las plántulas fueron inoculadas con 15 000 huevos y/o segundos estados juveniles (J₂) de cada una de las poblaciones colectadas en San Luis de Santo Domingo, provincia de Heredia (SL), La Isabel de Turrialba, provincia de Cartago (LI) y Sarchí de Valverde Vega, provincia de Alajuela (S), Costa Rica. Cuarenta días después de la inoculación se encontró que el número de agallas/planta y el diámetro de éstas fueron significativamente mayores en las plantas inoculadas con la población S que en aquellas inoculadas con SL, mientras que las inoculadas con LI tuvieron valores intermedios. No hubo diferencias significativas entre poblaciones en cuanto al número de nematodos/agalla, el número de J₂/agalla y el número de huevos/planta. Ochenta días después de la inoculación se encontró que en las plantas inoculadas con las poblaciones S y LI hubo un número de agallas/planta, número de nematodos/agalla un número de J₂/agalla y una población final significativamente mayor que las inoculadas con la población SL. La población S causó la formación de agallas radiculares de mayor diámetro y la mayor cantidad de huevos/planta. No hubo diferencias significativas entre poblaciones en cuanto al número de hembras/agalla. En ninguna evaluación se encontró diferencias significativas entre poblaciones en la altura de las plantas, el peso seco aéreo, el peso fresco de las raíces y el área foliar.

tas poblaciones de *M. exigua* y encontraron que una de ellas inducía la formación de agallas bien desarrolladas o fuertes engrosamientos en las raíces y que constituía un problema en cafetales nuevos; las otras dos poblaciones no indujeron agallas pero una de ellas produjo rajaduras y hendiduras en las raíces de mayor diámetro, por lo que resultó ser más nociva que las otras dos.

Machado (13) observó dos poblaciones de ese nematodo en Brasil las cuales mostraban diferencias en virulencia. Las plantas de cafeto atacadas por una de éstas presentaron raíces bastante ramificadas, con muchas agallas de diámetro pequeño; la otra población indujo sistemas radicales poco ramificados, sin agallas; las raíces se tornaron quebradizas, presentaban necrosis y desprendimiento cortical. Posteriormente, este autor y Lordello (14) realizaron pruebas de electroforesis con esas dos poblaciones y encontraron que las mismas diferían en su composición proteínica.

López (10) trabajó con poblaciones de *M. exigua* recolectadas en dos localidades de Costa Rica y en-

contró que una de ellas se reprodujo poco mientras que la otra se reprodujo muy bien en tomate. Notó además que los machos de una población tenía más acentuada la constricción que separa los labios medios (12) y que, al efectuar estudios de electroforesis (11), se observan diferencias en los patrones de algunas de las enzimas evaluadas. Estas evidencias llevaron a los autores (11, 14) a concluir que tales poblaciones eran fisiológica y genéticamente diferentes.

La existencia o el desarrollo de nuevas razas puede reducir la utilidad de cultivares considerados resistentes, por lo que es necesario que el fitomejorador tenga un buen conocimiento de la variación patogénica dentro de las especies de *Meloidogyne* (18). Por tal razón, se planeó el presente estudio cuyo objetivo fue el de evaluar el desarrollo y reproducción de tres poblaciones locales de *M. exigua* en café, para detectar posibles diferencias entre ellas.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó una investigación de marzo a setiembre de 1985, en un invernadero del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), en Turrialba, Costa Rica, localizado a 83°30' de longitud Oeste y 9°53' de latitud Norte, a una altitud de 602 msnm.

Se empleó el cultivar de café Catuai, susceptible a *M. exigua*, el cual fue inoculado con tres poblaciones de ese nematodo colectadas en las siguientes localidades de Costa Rica: San Luis de Santo Domingo, provincia de Heredia; La Isabel de Turrialba, provincia de Cartago y Sarchí de Valverde Vega, provincia de Alajuela. Estas poblaciones habían sido estudiadas e identificadas previamente por López (10, 11, 12); en este caso, se corroboró su identidad mediante la observación de patrones perineales. Se mantuvieron e incrementaron en plantas de chile (*Capsicum annuum* L.) cv. California Wonder.

Las plántulas de café fueron sembradas en bolsas de polietileno negro que contenían 1 300 ml de una mezcla de arena y suelo (2:1, v/v), tratada previamente con calor a 200°C durante 24 horas. Cuando las plántulas tenían su primer par de hojas verdaderas bien desarrolladas fueron inoculadas con 15 000 huevos y/o segundos estados juveniles (J_2) por planta; el inóculo fue obtenido mediante la maceración de las raíces agalladas de chile durante 45 segundos en una licuadora. Posteriormente, se pasó ese material a través de un juego de cribas superpuestas de 200 y 500 mallas. El filtrado de la criba de 500 mallas fue suspendido en agua en un recipiente aforado y se hizo una estimación del número de huevos y J_2 extraídos en cinco alícuotas de un ml.

Cada unidad experimental estuvo formada por dos plántulas. Los tratamientos evaluados fueron: a) inoculación con la población de San Luis; b) inoculación con la población de La Isabel; c) inoculación con la población de Sarchí y d) testigo sin inocular. Los mismos fueron dispuestos en un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones.

Cuarenta y ochenta días después de la inoculación se hizo la evaluación de las siguientes variables: altura de las plantas, peso seco de la parte aérea, peso fresco de las raíces, área foliar, número de agallas por planta, número de huevos recuperados por sistema radicular, diámetro de las agallas, número total de nematodos por agalla, número de hembras por agalla, número de juveniles por agalla y tasa de reproducción. El número de nematodos por agalla se determinó mediante la disección y observación de las mismas bajo el estereoscopio. La extracción de huevos del sistema radicular se realizó según el método de Hussey y Baker (9).

Como prácticas culturales se efectuaron fertilizaciones con la fórmula 20-7-12-3-1, 2 a la siembra y con sulfato de amonio un mes antes de la inoculación; un mes después de la misma se realizó una aplicación con el fertilizante foliar Stimufol (25-26-12-2). Mensualmente y en forma alterna, se aplicó los fungicidas óxido cuproso y captafol. Las plantas fueron regadas semanalmente con 100 ml de agua.

RESULTADOS

Los valores promedio de las variables evaluadas 40 días después de la inoculación se presentan en el Cuadro 1. Se encontró que el número de agallas por planta y el diámetro de las agallas fue significativamente mayor en plantas inoculadas con la población de Sarchí que en las inoculadas con la de San Luis, mientras que las inoculadas con la población de La Isabel tuvieron valores intermedios, estadísticamente iguales a los obtenidos con las otras dos. Las tres poblaciones difirieron significativamente del testigo sin inocular. En cuanto al número de nematodos por agallas y juveniles por agalla, no hubo diferencia significativa alguna entre las poblaciones de nematodos, pero sí entre éstas y el testigo. El número de hembras por agalla fue significativamente mayor en plantas inoculadas con las poblaciones de Sarchí y La Isabel que con la de San Luis, con diferencias significativas con respecto al testigo.

En lo referente al número de huevos por planta y la población final de nematodos no hubo diferencia significativa entre poblaciones, ni entre la población de San Luis y el testigo sin inocular. Además, no se

Cuadro 1. Valores promedios de las variables evaluadas en plántulas de *Coffea arabica*, cv. Catuai T5267, cuarenta días después de su inoculación con tres poblaciones de *Meloidogyne exigua*.

	Testigo	Población de <i>Meloidogyne exigua</i>		
		La Isabel	San Luis	Sarchí
Altura (cm)	7.87 a*	8.04 a	7.82 a	7.90 a
Peso aéreo seco (g)	0.40 a	0.39 a	0.35 a	0.40 a
Peso fresco raíz (g)	0.61 a	0.69 a	0.64 a	0.67 a
Área foliar (dm ²)	0.88 a	0.87 a	0.78 a	0.89 a
Agallas/planta	0.00 c	32.00 ab	21.00 b	37.00 a
Diámetro agalla (mm)	0.00 c	1.45 ab	1.20 b	1.66 a
Nematodos/agalla	0.00 b	6.19 a	4.95 a	5.63 a
Hembras/agalla	0.00 c	2.59 a	1.29 b	2.71 a
Juveniles/agalla	0.00 b	3.21 a	3.54 a	2.82 a
Huevos/planta	0.00 b	676.00 a	178.00 ab	481.00 a
Población final**	0.00 b	874.00 a	282.00 ab	689.00 a

* Promedio de cuatro repeticiones. Promedios en una misma hilera seguidos por una misma letra son estadísticamente iguales según la Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan (P = 0.05).

** Población final incluye el promedio de hembras, juveniles y huevos obtenidos en el sistema radicular de cada planta.

encontró diferencia estadística alguna entre tratamientos en cuanto a la altura, el peso aéreo seco, el peso fresco de la raíz y el área foliar de las plantas.

En el Cuadro 2 se presentan los resultados obtenidos en la evaluación realizada 80 días después de la inoculación. En esta oportunidad se encontró que, en plantas inoculadas con las poblaciones de Sarchí y La

Isabel, hubo un número significativamente mayor de agallas por planta, nematodos por agalla, juveniles por agalla y población final de nematodos que en las inoculadas con la población de San Luis o en el testigo; la diferencia entre estos dos últimos tratamientos también fue significativa. Todos los tratamientos difirieron significativamente entre sí en cuanto al diámetro de las agallas; la población de Sarchí tuvo

Cuadro 2. Valores promedios de las variables evaluadas en plántulas de *Coffea arabica*, cv. Catuai T5267, ochenta días después de su inoculación con tres poblaciones de *M. exigua*.

	Testigo	Población de <i>Meloidogyne exigua</i>		
		La Isabel	San Luis	Sarchí
Altura (cm)	7.97 a*	8.60 a	8.77 a	8.69 a
Peso aéreo seco (g)	0.30 a	0.34 a	0.31 a	0.37 a
Peso fresco raíz (g)	0.87 a	1.04 a	1.14 a	1.11 a
Área foliar (dm ²)	0.87 a	1.00 a	0.91 a	1.08 a
Agallas/planta	0.00 c	63.00 a	32.00 b	71.00 a
Diámetro de agalla (mm)	0.00 d	1.50 b	1.20 c	1.74 a
Nematodos/agalla	0.00 c	79.00 a	28.00 b	70.00 a
Hembras/agalla	0.00 b	2.24 a	1.47 a	2.04 a
Juveniles/agalla	0.00 c	77.00 a	27.00 b	67.00 a
Huevos/planta	0.00 c	370.00 bc	1 445.00 ab	2 234.00 a
Población final**	0.00 c	5 347.00 a	2 341.00 b	7 204.00 a

* Promedio de cuatro repeticiones. Promedios en una misma hilera seguidos por una misma letra son estadísticamente iguales según la Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan (P = 0.05).

** Población final incluye el promedio de hembras, juveniles y huevos obtenidos en el sistema radicular de cada planta.

el mayor promedio en esta variable. En cuanto al número de hembras por agalla, no hubo diferencias significativas entre poblaciones, pero éstas tuvieron valores significativamente mayores que el testigo. La población de Sarchi produjo una cantidad de huevos por planta significativamente mayor que el de La Isabel. La diferencia entre esta última y la población de San Luis no fue significativa; el testigo fue significativamente diferente de las poblaciones de Sarchi y San Luis en esta variable. Al igual que en la primera evaluación, a los 80 días no hubo diferencias significativas entre tratamientos en la altura de las plantas, el peso aéreo seco, el peso fresco de la raíz y el área foliar.

DISCUSION

Las poblaciones de *M. exigua* no afectaron significativamente el desarrollo de las plantas (Cuadro 1 y 2). Este resultado es común en investigaciones como la presente, donde se trabaja con plantas de crecimiento lento y con periodos de evaluación relativamente cortos (5). Por ejemplo, Baeza y Leguizamón (3) notaron que, al aplicar nematicidas para combatir *M. exigua* en café, el efecto positivo sobre el peso fresco de las partes aéreas fue notorio sólo después de seis meses. Algo similar ocurrió con la aparición de los síntomas aéreos en las plantas atacadas por esta especie; según Gonçalves (8), en una plantación de café nueva y sana, los primeros síntomas visibles de ataque de *M. exigua* aparecían generalmente entre el primer y segundo año después de su trasplante al campo. Otros autores (4, 16, 17) han observado la formación de agallas en las raíces sin que, inicialmente, se afectara el crecimiento de las partes aéreas. Seinshorst, citado por Wallace (19), ha explicado este hecho mediante la hipótesis del nivel de tolerancia en la que propone que el peso aéreo permanece más o menos constante hasta que se alcanza una densidad crítica de nematodos ("nivel de tolerancia"). Según este autor, esto ocurre porque la reducción inicial del crecimiento es baja y es, a su vez, superada por la capacidad compensatoria del sistema radical, ya sea mediante la producción de raíces nuevas y/o la existencia de un "exceso" de raíces en el mismo. Wallace (19) también ha mencionado que si la densidad poblacional de los nematodos es baja, su efecto nocivo sobre el crecimiento de las plantas puede ser pequeño lo cual podría ser confundido con la variabilidad inherente a las plantas.

Con respecto a la época en que fueron hechas las evaluaciones, se observó que 40 días después de la inoculación se pudo detectar la respuesta de las raíces de las plantas al ataque de *M. exigua*, pero que la misma fue más evidente y definida a los 80 días después de la inoculación, tanto en las raíces como en las par-

tes aéreas a pesar de que en este último no hubo diferencias significativas (Cuadro 1 y 2). Se podría concluir entonces que el período de 80 días es suficiente, si lo que se pretende es detectar el establecimiento y la reproducción de los nematodos en las plantas. Sin embargo, si el objetivo de la investigación fuera el de determinar si el ataque de *M. exigua* ocasiona algún daño a la planta, parecería recomendable que el momento de la evaluación para las variables de crecimiento fuera de 6 a 8 meses después de la inoculación.

En lo referente a las variables que deben ser evaluadas en esta clase de trabajos, se encontró que la población de Sarchi consistentemente causó la formación de agallas de mayor diámetro que las formadas por la población de La Isabel, lo que sugiere que esta característica podría ser utilizada como un criterio adicional para distinguir entre poblaciones. Sin embargo, no se mantuvo la misma diferencia entre estas poblaciones en cuanto al número de nematodos/agalla, hembras/agalla, juveniles/agalla y huevos/planta. Estos resultados concuerdan con lo anotado por Mendes (15), quien encontró que el tamaño de la agalla no siempre tiene relación con las últimas variables mencionadas por lo que no es recomendable emplearlo aislado para evaluar susceptibilidad. De hecho, la misma presencia de agallas en las raíces no es suficiente para asegurar el establecimiento y reproducción de los nematodos, ya que los mismos no son esenciales para que tales procesos ocurran (15). En este sentido, parecería recomendable que, en investigaciones futuras en que se trabaje en la selección de material resistente a *M. exigua* y a otras especies de *Meloidogyne* o en la diferenciación de poblaciones de esta especie de nematodo, se evalúe tanto el número de agallas/planta y su diámetro como el número de huevos/planta y la población final de nematodos.

Los resultados obtenidos en lo concerniente al desarrollo y reproducción de las tres poblaciones de *M. exigua* indican que existe diferencia entre ellas; en ambas evaluaciones y en prácticamente todas las variables, las poblaciones de Sarchi y de La Isabel tuvieron valores más altos que los de la población de San Luis. En trabajos previos (10, 11, 12) se ha encontrado evidencia de que las poblaciones de Sarchi y San Luis difieren en algunas características morfológicas, en la respuesta de plantas diferenciales y en los patrones electroforéticos de ciertas isoenzimas. Resultados similares han sido obtenidos por otros autores (6, 13, 14), quienes han trabajado con poblaciones de *M. exigua* colectadas en Brasil. Lo anterior hace suponer que *M. exigua* es una especie compuesta por varias razas y que en Costa Rica existen, al menos, dos de ellas; estas conclusiones, sin embargo, merecen ser confirmadas mediante nuevos estudios que inclu-

yan un mayor número de poblaciones de este nematodo. También, es importante considerar estos antecedentes al escoger alguna población de *M. exigua* para

realizar trabajos de selección de material de *Coffea* resistente a esta especie.

LITERATURA CITADA

1. ARRUDA, H.V. DE. 1960. Efeito depressivo de nematóides, sobre mudas de cafeeiro formadas em laminados. *Bragantia* 19:15-17.
2. ARRUDA, H.V. DE. 1960. Redução no crescimento de cafeeiro com un ano de campo, devida ao parasitismo de nematóides. *Bragantia* 19:179-182.
3. BAEZA, C.A.; LEGUIZAMON, J.E. 1977. Evaluación de nematocidas para el control de *M. exigua* en plántulas de *C. arabica* cv. Caturra. *CENICAFE* 28(3):108-116.
4. BARKER, K.R.; OLTHOF, I.H.A. 1976. Relationship between nematode population densities and crop responses. *Annual Review of Phytopathology* 14:327-353.
5. BOLIVAR, G. 1984. Metodología para evaluar la reacción del cafeto al nematodo *Meloidogyne exigua* Goeldi. Tesis Mag. Sc. Turrialba, C.R., Programa Universidad de Costa Rica/CATIE. 71 p.
6. CURI, S.M.; LORDELLO, L.G.E.; BONA, A. DE; CINTRA, D.F. 1970. Atual distribuição geográfica dos nematodes do cafeeiro (*Meloidogyne coffeicola* y *M. exigua*), no estado de São Paulo. *Biológico* 36(1):26-28.
7. FAZUOLI, L.C.; MONACO, I.C.; CARVALHO, A. 1977. Resistencia do cafeeiro a nematodios. 1. Testes em progenies e híbridos, para *Meloidogyne exigua*. *Bragantia* 36(29):297-307.
8. GONCALVES, J.C. 1970. Nematoides, seria praga de cafeicultura. *Divulgação Agronomica* no. 28:35-38.
9. HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R.A. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57(12):1 025-1 028.
10. LOPEZ, R. 1984. Differential plant responses and morphometrics of some *Meloidogyne* spp. from Costa Rica. *Turrialba* 34(4):445-458.
11. LOPEZ, R. 1985. Electrophoretic patterns of some *Meloidogyne* spp. from Costa Rica. *Turrialba* 35(1):71-76.
12. LOPEZ, R. 1985. Observaciones sobre la morfología de *Meloidogyne exigua* con el microscopio electrónico de rastreo. *Nematropica* 15(1):27-36.
13. MACEDO, R. 1984. Estudio sobre diferentes patogenicidades de *Meloidogyne exigua* em cafeeiro no estado de São Paulo, *Solo* 66(2):23-27.
14. MACEDO, R.; LORDELLO, R.A.; LORDELLO, L.G.E. 1975. Separação de duas populações de nematoides do genero *Meloidogyne*, com diferentes patogenicidades em cafeeiro a traves de electroforese. *Revista de Agricultura* 50(1-2):5-8.
15. MENDES, B.V.; FERRAZ, S.; SHIMOYA, C. 1977. Observações histopatológicas de raízes de cafeeiro parasitadas por *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887. In *Reunião de Nematologia*, 2, Piracicaba, Brasil, 1976. *Trabalhos apresentados*. Piracicaba, Sociedade Brasileira de Nematologia. p. 207-229.
16. MORERA, G., N. 1984. Reacción de algunos cultivares de arveja (*Pisum sativum* L.) al ataque de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) y *M. hapla* Chitwood y su efecto a densidades crecientes de inóculo. Tesis Ing. Agr. San José, C.R., Universidad de Costa Rica. 55 p.
17. OLTHOF, I.H.A.; POTTER, J.W. 1977. Effects of population densities of *Meloidogyne hapla* on growth and yield of tomato. *Journal of Nematology* 9(4):229-300.
18. TAYLOR, A.L.; SASSER, J.N. 1983. Biología, identificación y control de los nematodos de nódulo de la raíz (especies de *Meloidogyne*). Trad. del inglés. Raleigh, Universidad de Carolina del Norte. 111 p.
19. WALLACE, H.R. 1971. The influence of the density of nematode populations on plants. *Nematologica* 17:154-166.

Relationships Between Size, Conformation and Reproductive Traits in West African Dwarf Ewes¹

C. Tizikara*, O. Chiboka*

ABSTRACT

Linear body measurements taken on 137 ewes showed that heart girth and abdominal girthline are significantly ($P < 0.01$) related to ewe live weight, hence size. Lambing data collected on 65 ewes showed that heavier and larger-sized animals produce either larger or more lambs than lighter ones. High birth weights and total lamb weight carried to term are limited by uterine capacity, which is determined ultimately by body size. High weights also appear significantly associated with more pronounced topline curvature, which is conducive to greater depreciation in ewe value.

Data from 28 lactating ewes showed that lambing and rearing twin lambs gave better ($P < 0.01$) productivity indices and led to higher ($P < 0.05$) milk yield than rearing single lambs. Ewes appear to lactate according to their potential and in response to the demands of their offspring. Single lambs grew significantly ($P < 0.05$) faster than twins up to 28 days postpartum, but not thereafter. They gained more weight until weaning, although they were taking in less milk than twins during suckling periods. Lamb growth rate and milk production were positively ($P < 0.05$) related to lactational weight loss. While the number of lambs born had a significant ($P < 0.05$) effect upon milk production, it showed no significant ($P < 0.05$) effect on lactational weight loss.

INTRODUCTION

Body conformation has proved controversial in the evaluation of livestock. Although external linear measurements of sheep have attracted attention for some time as possible predictors of body weight and carcass yield, their practical utility is limited. Studies with cattle (30) have indicated that there is a general agreement that type (conformation) and production go together when applied to a large number of animals, but are not necessarily associated when individual animals are considered.

From observations of the conformation of West African Dwarf (WAD) ewes, it was hypothesised that

¹ Received for publication 5 June 1986

* Department of Animal Science, University of Ife, Ile-Ife, Nigeria.

COMPENDIO

Las medidas lineares del cuerpo tomadas en 137 ovejas indicaron que la circunferencia del corazón y las dimensiones del abdomen significativamente relacionadas ($P < 0.01$) con el peso vivo y con el tamaño de la oveja. Datos obtenidos con 65 ovejas mostraron que los animales más pesados y más grandes producen crías grandes o más corderos que los animales más livianos. Los pesos más altos al nacer y el peso total de las ovejas hasta parición están limitados por la capacidad uterina la cual, a su vez, es dependiente del tamaño corporal de la oveja madre. Cuando ocurren los pesos más altos, aparecen significativamente asociados con una mayor curvatura de la parte superior del cuerpo de la oveja madre lo cual reduce el valor de ésta en el mercado. Datos obtenidos de 28 ovejas lactantes mostraron que la cría de corderos gemelos dio mayores índices de productividad ($P < 0.01$) y condujo a mayores rendimientos de leche ($P < 0.05$) que la crianza de corderos únicos. Pareciera que las ovejas tienden a lactar de acuerdo a su potencial genético y a las demandas de sus crías. Los corderos únicos crecieron significativamente ($P < 0.05$) más rápido que los gemelos hasta los 28 días pero no después de ese lapso. Esos corderos alcanzaron mayor peso al destete aunque tomaron menos leche que los gemelos en cualquier período de la lactancia. La tasa de crecimiento de los corderos y la producción de leche estaban positivamente ($P < 0.05$) relacionadas con la pérdida de peso causada por la lactancia. Aún cuando el número de corderos nacidos mostró un efecto significativo ($P < 0.05$) sobre la producción de leche, no mostró ningún efecto significativo ($P < 0.05$) sobre la pérdida de peso causada por la lactancia.

the extent of topline curvature (TLC) could indicate the level of strain and consequent ewe depreciation arising from weight load in the abdominal chamber. This experiment was planned to provide a basis for broader research (24) on the productivity of WAD ewes and the biological limitations to improved productivity through breeding procedures.

MATERIALS AND METHODS

Data Preparation

In the month of October 1983, the live weight and body measurements of 137 nulli- and poly-parous ewes were taken at the University of Ife Teaching and Research Farm. Heart girth (HG) and abdominal girthline (AGL) were measured (in cm) as body circumference immediately behind the forelegs

and at the junction of the skin fold from the hind legs and the hind flank, respectively. Topline curvature (TLC), in mm, was determined as the distance to the skin from the base of a board placed along the vertebral column, the reading being taken at a point of greatest depth between the base of the base of the horizontal board and the skin. Lambing data (January 1981 – October 1983) for 65 ewes that had last lambed within the rainy season (April – October 1983) were retrieved from the farm records. Twenty-eight of the ewes which had lambed in October, together with their lambs, were used to assess five-hour milk production (5MP); daily milk production (DMP); fortnightly milk production (FMP); lactational weight changes (LWC); and lamb average fortnightly weight gain (AFG) as affected by the stage of lactation postpartum (SLP). The lambing data were used to calculate average number of lambs born (ALB), ewe parity (PAR), average birth weight (ABW) and lamb weight born (LWB).

Five-hour milk production was measured using the following lamb weight change procedures. Once every fortnight, ewes were weighed at 7:00 and their lambs separated. The ewes were sent to pasture while the lambs were kept in a pen without water or feed. Five hours later, the lambs were weighed and put to their dams to suckle for one hour, after which they were re-weighed and their weight change recorded as the amount of milk extracted every five hours. The five-hour time interval was chosen on the basis of the evidence on lambs' suckling behaviour described by Mount (19). It was assumed that since lambs were largely dependent on milk for their nutrition, and the since feed and water were not provided overnight nor during the five hours prior to the weighing, faecal and urinary losses within one hour would not be large enough to account for a significant loss in weight.

Data Analysis and Presentation

Non-linear regression analyses were carried out to establish prediction equations for ewe live weight (ELW) using either HG or AGL. Multiple linear regression analyses were also conducted to get predictive equations for TLC, and LWC using discrete variables. The significance of each of the independent factors was determined by partial regression analysis. The other results and comparisons were presented either in the form of graphs or tables of means, with significant differences being determined by either the Least Significant Difference (LSD) or Duncan's New Multiple Range Test (MRT). All statistical procedures were as outlined by Steel and Torrie (22).

RESULTS

The curvilinear relationship between ELW and HG or AGL is confirmed by the significance ($P < 0.01$) of fitting second-degree polynomial curves (Table 1). Topline curvature was significantly related to both LWB and PAR ($R = 0.320$, $P < 0.05$) but not to PAR alone. Lactational weight changes, which were negative, were significantly related to AFG and FMP either alone or combined. Fig. 1 shows the nature of the response of LWB and ABW to ALB computed for all the parities considered. There is a proportionately larger increase in LWB than the corresponding decrease in ABW as ALB improves, until two lambs, when LWB tends to level off while ABW falls at a faster rate. The number of lambs born and LWB seem to improve with parity, while ABW shows an initial decline but also starts increasing after the third parity. Ewe liveweight increased with PAR and therefore had compounded effects on ALB, LWB and ABW with PAR (Fig. 2)

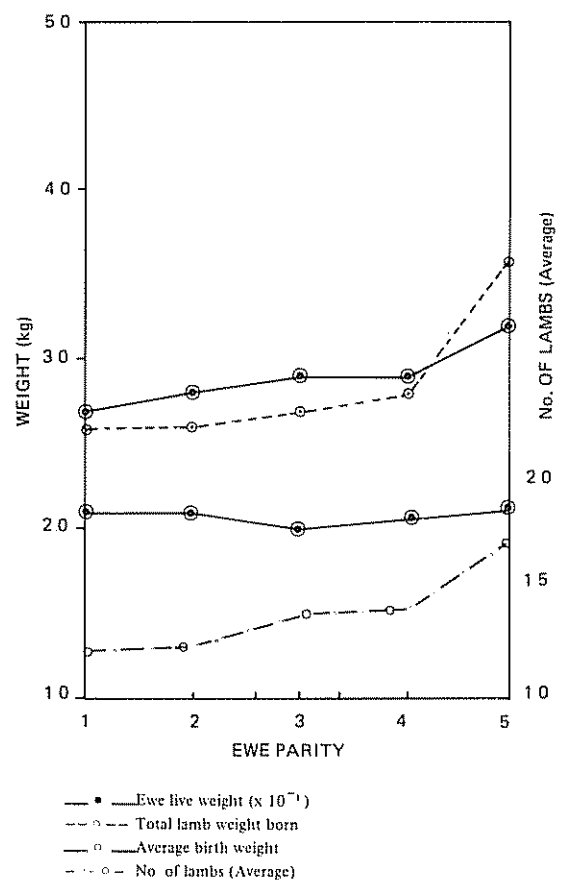


Fig. 1. Relationship between number of lambs born and lamb weights.

Table 1. Mean Squares of the ANOVA of multiple and partial regressions involving body measurements and some reproductive traits.

Regression Equation	n	X ₁ and X ₂	X ₁	X ₂	R
ELW = 19.71 - 0.73 HG + 0.11 HG ²	137	2 970.61**	6 154.45**	213.24**	0.918**
ELW = 18.54 + 0.45 AGL + 0.002 GL ²	137	2 826.67**	5 520.56**	132.78**	0.895**
TLC = 2.40 + 2.794 PAR + 2.191 LWB	65	256.15*	285.16NS	367.19*	0.320*
LWC = 2.90 + 0.684 AFG + 0.021 FMP	66	29.27**	58.54**	112.03**	0.572**

* P < 0.05.

** P < 0.01.

NS P < 0.05.

Table 2. Effect of litter size and stage of lactation post-partum on five-four milk production, lactational weight changes and fortnightly weight gain of lambs.

Stage of lactation (Days)	Single	Twins	Overall
(a) 5-hour milk production (5MP)			
0-14	0.15 ± 0.11 ^a	0.33 ± 0.19 ^b	0.23 ± 0.17
15-28	0.24 ± 0.17 ^a	0.53 ± 0.16 ^c	0.32 ± 0.21
29-42	0.22 ± 0.23 ^a	0.51 ± 0.14 ^c	0.31 ± 0.24
(b) Lactational weight change (LWC)			
0-14	-0.76 ± 1.05 ^d	-0.37 ± 0.89 ^d	-0.58 ± 0.97
15-28	-1.14 ± 2.10 ^d	-1.33 ± 1.94 ^d	-0.89 ± 0.93
29-42	-0.37 ± 1.44 ^d	-1.27 ± 1.81 ^d	-0.62 ± 1.57
(c) Average Fortnightly Gain (AFG)			
0-14	1.93 ± 0.54 ^e	1.25 ± 0.37 ^f	1.49 ± 0.54
15-28	1.78 ± 1.07 ^e	1.10 ± 0.54 ^f	1.48 ± 0.93
29-42	1.34 ± 0.72 ^e	0.86 ± 0.66 ^{ef}	1.14 ± 0.73
43-98	1.41 ± 0.35 ^e	1.06 ± 0.27 ^{ef}	1.23 ± 0.31

Means with the same superscript in the same row or column show no significant difference (P > 0.05).

Table 3. Some reproductive characteristics of West African Dwarf ewes as affected by litter size.

Trait	Single ^a	Twins ^b	Overall
Ewe weight at lambing (kg)	28.36 ± 3.89	29.82 ± 5.85	28.98 ± 4.78
Lamb birth weight (kg)	2.29 ± 0.44	2.08 ± 0.27	2.19 ± 0.35
Lamb mass born/ewe (kg)	2.29 ± 0.44	4.16 ± 0.54	3.23 ± 0.49
Lamb weaning weight (kg)	13.14 ± 2.17	9.83 ± 1.22	11.97 ± 2.53
Lamb mass weaned/ewe (kg)	13.14 ± 2.17	19.66 ± 2.44	16.40 ± 2.31
Daily milk production (kg)	0.98 ± 0.17	2.19 ± 0.16	1.38 ± 0.21
Type of birth (%)	55.17	44.83	
Lamb proportion at birth (%)	37.21	62.79	
Lamb survival rates	1.00	0.70	0.81

Data used were collected from 28 ewes with 41 lambs at lambing (33 at weaning).

a, b, - mean values for singles and twins were significantly different for all traits (P < 0.05).

Table 4. Productivity indices for West African Dwarf ewes as affected by litter size.

Index (%) ^a	Single ^b	Twins ^c	Overall
Ewe Index 1	8.08	6.98	7.56
Ewe Index 2	75.08	130.82	104.19
Ewe Index 3	46.33	65.93	56.59
Ewe Index 4	106.92	154.07	131.30
FPI*	29.81	52.99	82.80

a Data in Table 3 was used to derive the indices as indicated below:

$$\text{Ewe Index 1} = \frac{\text{Lamb birth weight}}{\text{Ewe weight at lambing}} \times 100$$

$$\text{Ewe Index 2} = \frac{\text{Lamb weight born per ewe}}{\text{Expected weight}} \times 100$$

$$\text{Ewe Index 3} = \frac{\text{Lamb weight weaned}}{\text{Ewe weight at lambing}} \times 100$$

$$\text{Ewe Index 4} = \frac{\text{Lamb weight weaned}}{\text{Ewe metabolic body weight}} \times 100$$

Flock Productivity Index (FPI) =

$$\frac{(\text{Singles born} \times \text{Survival rate} \times \text{Weight weaned}) + (\text{Twins born} \times \text{Survival rate} \times \text{Weight weaned})}{\text{Total lambs born} \times \text{Overall weaning weight}}$$

b, c – mean values for singles and twins were significantly ($P < 0.01$) different.

* Figures give the proportionate contribution to overall flock productivity index of twin and single lambs.

Ewes that nursed twins (Table 2a) produced significantly ($P < 0.05$) more milk than those nursing single lambs. Lactational weight changes by the ewes (Table 2b) were not significantly ($P < 0.05$) affected by either the stage of lactation up to 6 weeks or the number of lambs nursed. Single lambs grew significantly faster ($P < 0.05$) than twins in the first four weeks, but not ($P < 0.05$) thereafter (Table 2c). Stage of lactation did not significantly ($P < 0.05$) affect fortnightly gain in either singles or twins. Single lambs had significantly ($P < 0.05$) higher birth weights, weaning weights and survival rates than twins (Table 3). Ewes that gave birth to twins were significantly ($P < 0.05$) heavier than those that gave birth to singles and were also superior in terms of lamb weight born and weaned as well as in daily milk production. Multiple births, although they accounted for a smaller proportion of the total births, contributed a significantly ($P < 0.05$) higher proportion to the total lamb population at birth and also at weaning, despite the lower survival rates of twins. The

productivity indices shown in Table 4 further indicate the superiority of the more prolific ewes when evaluated individually or on basis of their proportionate contribution to flock productivity.

DISCUSSION

The high correlation between HG and ELW ($R = 0.918$) is in agreement with reports on the same breed of sheep, locally known as Djallonke, in Senegal (10). They noted that heart girth is widely recognised as the most satisfactory single linear measurement for estimating live weight in livestock. As expected, AGL followed the same trend as HG in relation to ELW, but with a wider variation attributable to the effects of gut fill and uterine contents during pregnancy. The use of physical measurements in predicting liveweight is well discussed by Kandasamy and Gupta (12) and in selection by Tizika *et al.* (26).

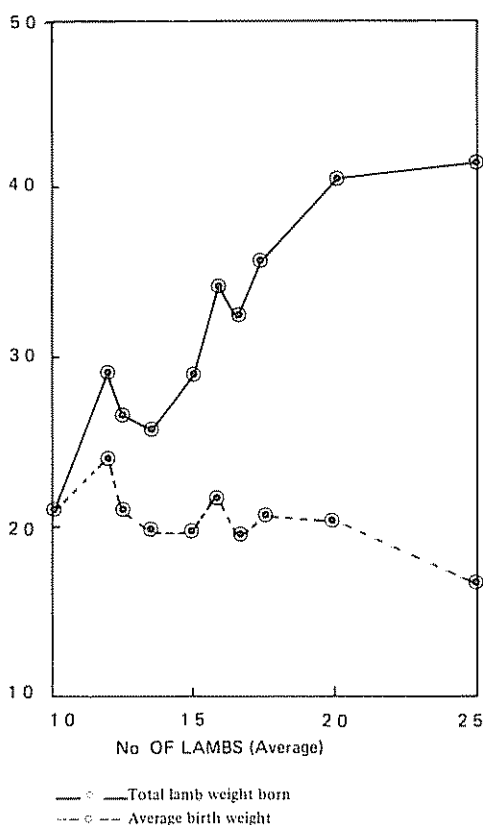


Fig. 2. Relationship between parity, number of lambs born and ewe and lamb weights.

Abdominal girthline depends not only on animal size but also on size and content of the gut and uterus. It is possible that where these form a significantly high proportion of the ELW, they may generate a pull on the backline and cause it to curve in. This is suggested by the relationship between TLC, LWB and PAR. Land (15) noted that the production of more lambs per ewe per year may cause higher ewe depreciation. Changes in TLC with parity and relative to LWB may indicate such depreciation. ILCA (11) noted that up to 40% of ewe live weight might be lambs and placenta when near to term; hence the consequences of the stress on the ewe need to be considered and minimised in managing prolific breeds of sheep. However, given the low significance ($P < 0.05$) of the correlation coefficient from the analysis involving TLC, LWB and PAR and the non-significance ($P < 0.05$) of the partial regression between TLC and PAR, it would appear that the average WAD ewe possesses a size and carries a weight (conceptus and feed) that enables it to maintain its shape and conformation. This suggests a high level of evolutionary adaptation as earlier reviewed (28). It has favoured the development of small-sized animals, possible with limited uterine capacity, in itself a

serious limitation to the number and birth weight of lambs. This size limitation is apparently a common feature of most tropical livestock (5, 6 23).

The increases in ALB and LWB with PAR are consistent with the observation that higher parity animals are frequently heavier and thus bound to have higher reproductive efficiencies and productivity. A linear relationship exists between the log of total weight of newborn young and log of maternal weight (8, 17). The weight of the young carried (N, in grams) can be predicted from the mother's weight (M, in grams) by the formula, $N = 0.5408M^{0.8323}$ (17). Individual birth weight, for its part (14), as a proportion, is independent of maternal weight, varying around an average of 5% (range 3 - 10%). With lower maternal weights, once 5% of the maternal weight is greater than $0.54M^{0.83}$, multiple births may be favoured.

The experimental evidence presented in Table 4 clearly indicates that the average WAD ewe is producing at expected levels. Indices 1 and 2, for example, suggest that the WAD ewe has adequate uterine capacity for the production of one lamb only and that those that give birth to twins exceed the expected by 30%. Increasing the number of fetuses beyond two (which also already exceeds average ewe capacity), or birth weight beyond the calculated N value of 3.02 ± 0.41 kg, may prove disadvantageous because of increased lamb mortality. According to Land (14), mortality tends to increase when individual birth weight exceeds 10% of the maternal weight due to difficulties at parturition (dystocia) and when it is below 3% due to neonatal morbidity. Birth weight is therefore restricted by the ability of the fetus of grow fast enough to be above 3% and sufficiently slowly for it to be less than around 10% of maternal weight. The values were 8.08% for singles and 6.98% for twins in the experimental ewes (Table 4), both of which are well above the 5% average.

As in the present study, other investigators have agreed that maximum daily milk production in ewes is attained during the first month of lactation, especially 15 - 20 days post-partum (1, 7, 13). Yield was significantly affected by type of birth and/or number of lambs reared. Similar results were obtained with other breeds (2, 4, 7, 13). The increase in milk production has been attributed to higher oxytocin levels resulting from greater udder stimulus in multiple-suckled ewes. The greater udder stimulus may also ensure increased prolactin production to maintain mammary gland integrity, since it was noted (18, 20) that a wave of cell division occurs in mammary gland tissue towards the end of gestation and into the early stages of lactation.

These would explain why significantly ($P < 0.05$) more milk was produced in the later stages of lactation than in the first two weeks (which could be taken as a period of adjustment) with ewes that produced and nursed twins. Further, since natural selection would favour the birth of more lambs by heavier animals (3, 8), it is possible that animals that gave birth to twins either were in a better condition or also had the potential to produce more milk. Ehoche and Buvanendran (9) noted that in Red Sokoto goats, does which produced twins were heavier (23.7 ± 0.51 vs. 20.8 ± 0.71 kg) and produced 20% more milk than those that produced singles. They held the opinion that body weight may influence milk yield more significantly than the number of kids nursed.

Increase in milk production is known to enhance lamb growth (13) and it is therefore not surprising to note that growth rate was not significantly different between singles and twins from 29 to 98 days, given the greater increase in milk production by ewes suckling twin lambs. As suggested for goats (9), the slower growth rate of twins may be attributed to the weight disadvantage they had at birth and diminished nutritional supply in utero. Milk production and actual weaning mass (16, 29) provide conclusive proof with regard to animal efficiency. The WAD ewe therefore

appears to be an efficient producer and could be more so if it were selected for twinning ability and higher milk yield, either directly or indirectly by selecting heavier and larger animals.

Lactational weight loss was significantly ($P < 0.01$) related to FMP and AFG. However, the two factors accounted for 32.7% of the observed weight loss (Table 1), indicating that other factors (not considered in this study) affected the LWC more strongly. Orji and Steinbach (21) reported that WAD ewes lost about 0.13 kg of their weight per week, with greater losses noted within the first seven weeks of lactation. In the present study, the ewes lost weight at a rate of 0.18 kg per week during the first six weeks of lactation.

In conclusion, it is clearly understood that body size is correlated with live body weight and productivity of ewes. Excessive weight load in the abdominal cavity may significantly reduce lifetime productivity (longevity) through greater ewe depreciation, as shown by the effect of the load on topline curvature (24, 25, 27). The improvement of the West African Dwarf sheep could be achieved not through overburdening the resource of the individual animals, but rather through the selection of those that show superior performance, especially with regard to twinning and suckling ability.

LITERATURE CITED

- ADU, I.F.; OLALOKU, E.A.; OYENUGA, V.A. 1974. The effect of energy intake during late pregnancy on lamb birth weights and lactation of Nigerian dwarf sheep. *Nigerian Journal of Animal Production* 1(2):151-161.
- ALEXANDER, G.; DAVIES, H.L. 1959. Relationship of milk production to number of lambs born. *Australian Journal of Agricultural Research* 10(5):720-724.
- ASIEDU, F.H.K.; APPIAH, M. 1983. Note on the effects of body weight and lambing interval on the reproductive performance of West African sheep raised under tree crops. *Tropical Agriculture (Tri.)* 60(1):61-63.
- BANKEY, E. 1949. Basic principles of breeding milk merino sheep. *Animal Breeding Abstract* 18:288.
- CHIBOKA, O. 1979. Effect of age at breeding on reproduction in local sheep. *Ife Journal of Agriculture* 1(2):183-195.
- CHIBOKA, O. 1981. The effect of age at first mating on litter characteristics in the native Nigerian pig. *Livestock Production Science* 8(2):155-159.
- CORBETT, J.L. 1968. Variation in the yield and composition of milk of grazing merino ewes. *Australian Journal of Agricultural Research* 19(2):283-294.
- DONALS, H.P.; RUSSEL, W.S. 1970. The relationship between liveweight of ewe at mating and weight of newborn lamb. *Animal Production* 12(3):272-280.
- EHOCHÉ, O.W.; BUVANENDRAN, V. 1983. The yield and composition of milk and pre-weaning growth rate of Red Sokoto goats in Nigeria. *World Review of Animal Production* 19(2):19-24.
- FALL, A.; DIOP, M.; JENNIFER SANDFORD, WISSOCQ, Y.J.; DURKIN, J.; TRAIL, J.C.M. (eds.) 1982. Evaluation of the productivities of Djallonké sheep and N'Dama cattle at the Centre de Recherches Zootechniques, Kolda, Senegal. ILCA Research Report No. 3. International Livestock Centre for Africa, Addis Ababa, Ethiopia.
- ILCA, 1985. Prolific sheep. In *The small ruminant and camel group*. Newsletter No. 4. International Livestock Centre for Africa. Addis Ababa, Ethiopia.

12. KANDASAMY, N.; GUPTA, D.C. 1983. Studies on the physical measurement, live weight and fleece weight in native and cross-bred sheep in a semi-arid zone of India. *Tropical Agriculture (Tri.)* 60(2):92-94.
13. KARAM, H.A.; JUMA, K.H.; AL-SHEBIBI, M.; ELIYA, J.; ABU AL MA'ALI; H.N. 1971. Milk production in Awassi and Hungarian Merino sheep in Iraq. *Journal Agriculture Science (Camb)* 76(3):507-517.
14. LAND, R.B. 1977. Genetic variation and improvement. In *Reproduction in domestic animals*. Ed by Cole, H.H., Cupps, P.T. 3rd Ed., Academic Press p. 577-604.
15. LAND, R.B. 1978. Increasing multiple births and frequency of lambings. *World Review of Animal Production (FAO)* 26:7-12.
16. LARGE, R.V. 1970. The biological efficiency of meat production in sheep. *Animal Production* 12(4): 393-401.
17. LEITCH, I.; HYI TEN, F.E.; BILLIEWICZ, W.Z. 1958. The maternal and neonatal weights of some mammalia. *Proceedings of the Zoological Society of London* 133:11-28.
18. LYONS, W.R. 1958. Hormonal synergism in mammary growth. *Proceedings of the Royal Society of Biology* 149:303-325.
19. MOUNT, L.E. 1975. Physiology of the newborn animal. In *Veterinary endocrinology and reproduction*. Ed. by McDonald, L.E. 2nd ed., Lea and Febiger. p. 464-484.
20. MUNFORD, R.E. 1964. A review of anatomical and biochemical changes in the mammary gland with particular reference to quantitative methods of assessing mammary development. *Dairy Science Abstracts* 26:293.
21. ORJI, B.I.; STEINBACH, J. 1976. Lamb nursing in the Nigerian Dwarf sheep. *Nigerian Journal of Animal Production* 3(1):98 (Abstr.)
22. STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.R. 1980. *Principles and procedures of statistics* 2nd McGraw-Hill.
23. IIZIKARA, C. 1983. The incidence of multiple birth in small East African goats (*Capra hircus*, 1) in Uganda. *World Review of Animal Production* 19(4):77-79.
24. IIZIKARA, C. 1985. The effect of dam conformation and sire breed on ewe reproductive and lamb performance. M. Phil. Thesis, University of Ife.
25. IIZIKARA, C. 1986. Crossbreeding of hair sheep in Nigeria: A review of current literature and proposals for a national improvement programme. Paper presented at the 13th Annual Conference of the Genetics Society of Nigeria at FRIN, Ibadan, Nigeria.
26. IIZIKARA, C.; AKINOKUN, O.; CHIBOKA, O. 1984. The genetic factor improvement of West African Dwarf sheep: Potentials and limitations. Paper presented at the 4th Annual Meeting of the Nigerian Society for the Study of Reproduction held at ABU, Zaria, Nigeria.
27. IIZIKARA, C.; CHIBOKA, O. 1986. Effect of ram breed and size on reproductive performance of West African Dwarf (WAD) ewes. (Submitted to Turrialba).
28. IIZIKARA, C.; AKINOKUN, O.; CHIBOKA, O. 1986. A review of factors limiting productivity and evolutionary adaptation of tropical livestock. *World Review of Animal Production* 22(In Press).
29. VENIER, H.A.W. 1977. The efficiency of preweaning growth of certain beef, dual purpose, and cross breeds in the sweet bush veld of the Northern Transvaal. D. Sc. Thesis, University of Pretoria.
30. WARWICK, E.J.; LEGATES, J.E. 1979. Breeding and improvement of farm animals. 7th ed., McGraw-Hill. p. 359-367.

Epidemiología de Nematodos Gastroentéricos de Ovinos en Zonas Áridas en Venezuela¹

L.A. Pino*, G. Morales*, L. Perdomo*, E. Aldana*

ABSTRACT

A total of 69 sheep reared in arid zones were sacrificed at a rate of six per month, and the following worms were recorded: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei*, *T. colubriformis*, *Cooperia curticei*, *Oesophagostomum columbianum*, *Trichuris globulosa*, *Skrjabinema ovis* and *Bunostomum trigonocephalum*. The monthly coefficient of variation showed more species in larger numbers during March and August 1984 and February 1985, without relation to climatic changes in the experimental site. All these parasites had an overdispersion in the host population, which was more intense for *S. ovis*, *T. colubriformis*, *T. axei* and *H. contortus* showed higher prevalence and dominance after the prevalence-frequency relationship was observed. *O. columbianum*, considered among the lesser species, had a prevalence higher than 50%.

INTRODUCCION

En Venezuela, la población ovina está compuesta por unas 370 000 cabezas, distribuidas principalmente en los estados Lara, Falcón, Zulia y Mérida, con una producción anual estimada en 2 000 t de carne (23).

La facilidad de adaptación de esta especie animal a zonas áridas, donde su alimentación se limita a pastos autóctonos, evidencia las enormes perspectivas económicas de su explotación en el país.

Además, la factibilidad de su utilización en el combate de malas hierbas en cultivos de frutales y cafetales, por ejemplo, así como en la limpieza de las bordas y terraplenes en sistemas de riego, hacen interesante su incorporación a sistemas de producción agrícola vegetal.

Uno de los factores que limitan la explotación de ovinos es el parasitismo, fundamentalmente el gastro-

COMPENDIO

Mediante necropsia parasitaria de 69 ovinos procesados a razón de un promedio de seis mensuales y provenientes de zonas áridas de Venezuela, se determinó la presencia de los siguientes nematodos gastroentéricos: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei*, *T. colubriformis*, *Cooperia curticei*, *Oesophagostomum columbianum*, *Trichuris globulosa*, *Skrjabinema ovis* y *Bunostomum trigonocephalum*. El cálculo de los coeficientes de variación mensual demostró que, durante los meses de marzo y agosto de 1984 y febrero de 1985 el mayor número de especies parásitas presentaron sus máximas abundancias, no evidenciándose relación entre dichos incrementos y las condiciones microclimáticas de la zona. Todos los parásitos presentaron una elevada sobredispersión en el seno de la población de hospedadores, siendo la misma más intensa para *S. ovis*. Mediante la relación prevalencia-frecuencia se determinó que *T. colubriformis*, *T. axei* y *H. contortus* fueron las especies más prevalentes y dominantes en la comunidad parasitaria. De las restantes, que se pueden considerar especies menores, sólo *O. columbianum* presentó una prevalencia superior al 50%.

intestinal (13, 19, 29); estas razones motivaron a los autores a realizar un estudio epidemiológico que se considera de utilidad para el desarrollo de futuros programas de combate de nematodos gastroentéricos

MATERIALES Y METODOS

Descripción de la zona experimental

Los ovinos utilizados en el presente estudio provenían de las localidades de Los Arangües, El Culebrero y La Granja, todas pertenecientes al distrito Torres, estado Lara, Venezuela, con una altitud que oscila entre los 430 y los 510 msnm, una precipitación promedio mensual de 35.79 mm a 53.02 mm y una relación precipitación total- evaporación que varía de 4.5 a 8.4. La temperatura mínima promedio está comprendida entre los 18°C y los 23.9°C, pudiendo la temperatura máxima alcanzar los 37.2°C. Los valores promedios de la temperatura máxima, mínima y de precipitación mensuales de las zonas en estudio se incluyen en el Cuadro I.

De acuerdo con la clasificación de Holdridge (12), las localidades mencionadas estarían ubicadas en las zonas de vida de "Transición de bosque muy seco tropical" hacia "Maleza desértica"

¹ Recibido para publicación el 18 de noviembre de 1986.

* Laboratorio de "Ecología de Parásitos", Núcleo Universitario "Rafael Rangel", Universidad de Los Andes, estado de Trujillo, 3102-A, Venezuela.

Cuadro 1. Características climáticas, de vegetación y usos pecuarios de las zonas de procedencia de los caprinos utilizados en el presente estudio.

Localidad	A. (msnm)	P(mm)		T(°C)		E. (mm totales)	Zona de Vida	Utilidad pecuaria
		PT	P \bar{X}	\bar{X} máx.	\bar{X} mín.			
Los Arangües	511	636.2	53.02	33.93	18.1	2 891.2	Transición de bosque muy seco tropical hacia bosque espinoso.	Cria de ganado caprino y en menor escala de vacuno.
La Granja	43	402.5	35.79	32.5	23.9	3 371.6	Transición de bosque espinoso hacia maleza desértica.	Cria de ganado caprino.
El Culebrero	510	543.7	45.30	32.5	23.9	3 230.1	Bosque espinoso hacia maleza desértica.	Cria de ganado caprino y ovino más raramente.

Altitud (A); Precipitación total (PT); Precipitación promedio (P \bar{X}); Temperatura (T); Temperatura promedio máxima (\bar{X} máx.); Temperatura promedio mínima (\bar{X} mín.); Evaporación (E), Metros sobre el nivel del mar (msnm); Milímetros (mm).

Métodos parasitológicos

Se examinó un total de 69 tractos gastrointestinales de ovinos adultos, sacrificados en el matadero semiindustrial de Carora, estado Lara, durante el lapso comprendido entre febrero de 1984 y febrero de 1985.

El número de animales muestreados por mes fue generalmente de seis, salvo en los meses de mayo y agosto en los cuales se muestrearon cuatro, en el mes de enero, siete (en el mes de junio, no hubo muestreo, ya que en este mes no hubo sacrificios en el matadero).

Después de muertos los animales, se les extrajo el tracto gastrointestinal; se separó con ligaduras el abomaso, el intestino delgado y el intestino grueso y se les identificó y colocó en bolsas plásticas para su congelación a -20°C, hasta el momento de su procesamiento en el laboratorio. La necropsia parasitaria se realizó de acuerdo con las técnicas recomendadas por Morales y Pino (18), según las cuales el contenido de cada órgano y el producto del lavado de sus mucosas es tamizado bajo la presión de un chorro de agua; el contenido residual se conserva en isopropanol al 70% y de ahí se toman alicuotas correspondientes al 20% para el abomaso, 25% para el intestino delgado y el 100% para el intestino grueso.

El aislamiento de los nematodos se efectuó con ayuda de una lupa de 12 aumentos y la identificación

se hizo al microscopio siguiendo las claves suministradas por diversos autores (11, 27).

Para hacer el estimado del número total de parásitos de cada especie presente por ovino examinado y de acuerdo a la alicuota tomada, se empleó la fórmula de Clark, Tucker y Turton (6):

$$N = 100(r/P)$$

En donde:

N: número de nematodos discriminados por especie, presentes en cada ovino examinado

P: porcentaje del volumen total examinado (aliquota)

r: número de nematodos presentes en la alicuota.

Análisis de los datos

En el presente trabajo se utilizan términos ecológicos que son de gran utilidad en epidemiología de parásitos; para mayor claridad, se da la definición de los mismos propuesta por Margolis *et al.* (17):

- Abundancia: número promedio de parásitos de cada especie presentes en los animales examinados; incluye, por lo tanto, a los ovinos infestados y no infestados.
- Prevalencia: porcentaje de hospedadores infestados por cada especie parásita

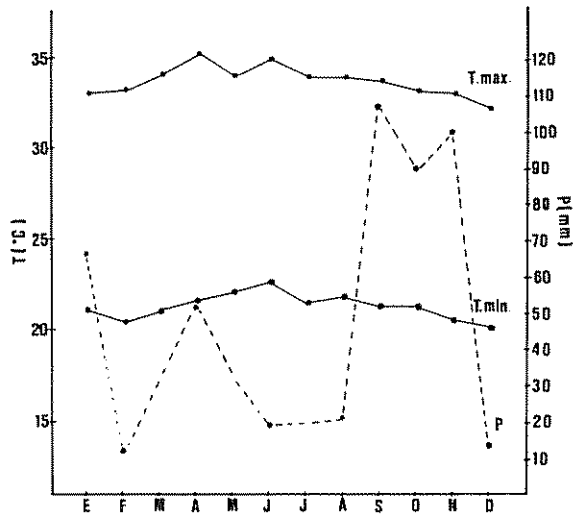


Fig. 1. Valores de temperatura máxima (T. max.), mínima (T. min.), y de precipitación promedio (P) durante los meses del año 1984, en las zonas de proveniencia de los ovinos estudiados.

- Frecuencia: porcentaje que representa el número de parásitos de una especie en relación con el total de parásitos de todas las especies encontradas.
- Coeficiente de variación mensual: cociente entre la media aritmética mensual del número de parásitos contados por cada especie (abundancia) y la media aritmética anual correspondiente para la misma especie (24).

La distribución de las diferentes especies parásitas en la población de hospedadores se determinó mediante el cálculo del coeficiente de agregación común (Kc), para el cual se utilizaron los datos correspon-

dientes a todos los meses muestreados. Su fórmula, según Southwood (28), es la siguiente:

$$Kc = \frac{\sum X_i}{\sum Y_i}$$

En donde:

$$X_i : \bar{X}^2 - (s^2/N)$$

$$Y_i : s^2 - \bar{X}$$

s² : Varianza.

Los valores del coeficiente de agregación son inversamente proporcionales al grado de agrupamiento de las especies parásitas en los hospedadores (5, 22, 25, 28).

RESULTADOS

En el presente estudio se identificaron las siguientes especies de nematodos parásitos: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei*, *T. colubriformis*, *Trichuris globulosa*, *Cooperia curticei*, *Oesophagostomum columbianum*, *Skirjabinema ovis* y *Bunostomum trigonocephalum*.

Mediante el cálculo de los coeficientes de variación mensual se estableció que, durante marzo y agosto de 1984 y febrero de 1985, un mayor número de especies de nematodos parásitos presentaron incrementos en sus abundancias (Cuadro 2).

En el Cuadro 3 se presenta el coeficiente de agregación común de los nematodos encontrados. Los valores obtenidos demostraron que todas las especies de nematodos se encontraron altamente sobredispersados en el seno de la población de hospedadores y que esa sobredispersión fue más intensa en *S. ovis*

Cuadro 2. Coeficientes de variación mensual de las abundancias de los nematodos parásitos presentes en ovinos estudiados durante los meses muestreados.

Especie	Coeficientes de variación mensual (%)											
	Feb.'84	Mar.	Abr.	May.	Jul.	Ago.	Sept.	Oct.	Nov.	Dic.	Ene.	Feb.'85
<i>H. contortus</i>	139.3	397.0	540.2	82.9	54.7	36.7	70.9	28.8	68.1	79.8	40.1	142.6
<i>T. axei</i>	7.5	162.9	81.4	170.8	116.5	51.6	0.36	213.2	50.4	21.8	111.8	13.8
<i>T. colubriformis</i>	30.5	135.9	46.6	39.7	38.7	195.9	71.6	94.4	163.9	141.7	132.4	109.1
<i>C. curticei</i>	0.16	123.3	24.6	12.3	-	133.7	-	57.5	178.2	640.4	17.3	-
<i>O. columbianum</i>	0.67	186.2	75.2	11.9	162.3	353.6	49.4	-	211.9	15.8	52.5	13.8
<i>T. globulosa</i>	83.3	39.1	83.3	73.6	-	610.6	48.9	-	68.6	63.6	92.6	103.2
<i>S. ovis</i>	-	342.3	423.8	-	-	-	-	6.9	-	4.6	7.9	414.3
<i>B. trigonocephalum</i>	-	-	-	-	-	-	-	1.200	-	-	-	-

En la Fig. 1 se puede observar que *T. colubriformis*, *T. axei* y *H. contortus* fueron las especies más prevalentes, abundantes y dominantes en el seno de la comunidad de parásitos; de las restantes, sólo *O. columbianum* tuvo una prevalencia superior al 50% pero su frecuencia fue muy baja, al igual que la de *C. curticei*, *T. globulosa*, *S. ovis* y *B. trigonocephalum*; estas últimas pueden ser consideradas como especies menores.

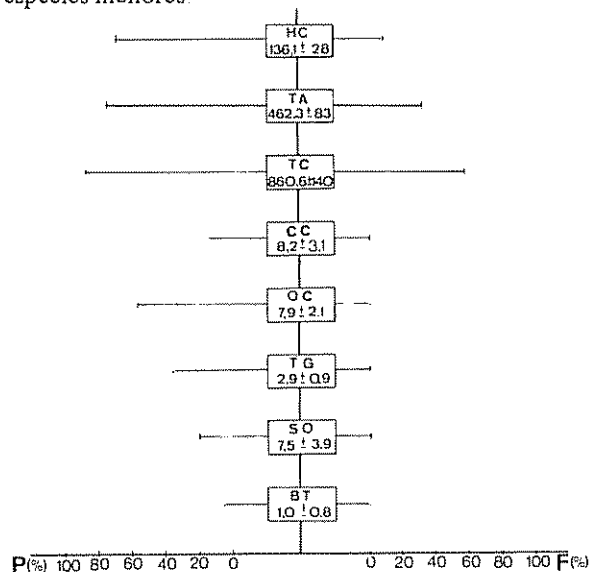


Fig. 2. Relación prevalencia-frecuencia, y valores de abundancia de las especies parásitas presentes en los ovinos estudiados. HC: *Haemonchus contortus*, TA: *Trichostrongylus axei*, TC: *T. colubriformis*, CC: *Cooperia curticei*, OC: *O. columbianum*, TG: *Trichuris globulosa*, SO: *Skrjabinema ovis*, BT: *Bunostomum trigonocephalum*
P: Prevalencia, F: Frecuencia

Cuadro 3. Coeficientes de agregación común (Kc) de las especies de nematodos presentes en ovinos provenientes de varias zonas áridas de Venezuela.

Especie	Kc
<i>H. contortus</i>	0.6509
<i>T. axei</i>	0.6771
<i>T. colubriformis</i>	0.3573
<i>C. curticei</i>	0.3582
<i>O. columbianum</i>	0.2450
<i>T. globulosa</i>	0.5580
<i>S. ovis</i>	0.0309

DISCUSION

El coeficiente de variación mensual es un descriptor apropiado que permite evaluar en forma eficaz los incrementos y decrementos de la abundancia de una especie parásita en el curso del año. Los resultados

obtenidos mostraron que solamente en tres meses (marzo y agosto de 1984 y febrero de 1985) un mayor número de especies parásitas incrementó su abundancia en relación al promedio general del año; sin embargo, este hallazgo no guardó relación con la temperatura ya que la misma tuvo pocas variaciones durante todo el año ni tampoco con la precipitación, pues la evaporación en las zonas extremadamente elevada y ocasiona un déficit de agua, a nivel del suelo, durante todo el año. Estas condiciones climáticas imposibilitan el uso de bioclimatógrafos con fines predictivos como lo proponen Gordon (14) y Levine (15) para la planificación del suministro de tratamientos antihelmínticos en el curso del año. Los bioclimatógrafos son gráficas en las que se representan los promedios mensuales de temperatura y precipitación, a los cuales se sobreponen líneas indicativas de las condiciones climáticas más favorables para las diferentes formas de vida libre de los nematodos parásitos. Las deficiencias del uso de esta información fueron planteadas por Levine (15), quien indicó que eran debidas a que, en su elaboración, se tomaba en cuenta la temperatura y la precipitación a nivel del macroambiente y no a nivel del microambiente con el cual están directamente en contacto las formas de vida libre de los parásitos. Además, Thomas (30) considera que entre ambos ambientes existen considerables diferencias, fundamentalmente en lo que respecta a temperatura y humedad.

Por consiguiente, es recomendable para la planificación de tratamientos antihelmínticos tener el conocimiento de las condiciones microclimáticas de las zonas de ubicación de la explotación en estudio. Entre tanto, se puede vislumbrar la realización de encuestas helmintológicas mensuales a nivel de mataderos, con animales discriminados por edad y que, a partir de ahí, se suministre la información a los criadores acerca de cuándo, cómo y con cuál antihelmíntico se deben tratar los ovinos, tal y como lo proponen Morales *et al* (20), mediante el uso de diversos índices basados en la teoría de la información (Diversidad de Shannon-Weaver, Diversidad Máxima y Equitabilidad).

Como un complemento de la información obtenida mediante los índices de variación mensual, en la evaluación del parasitismo en una zona es de inestimable importancia la determinación de la relación prevalencia-frecuencia; esta relación permite conocer, además del porcentaje de animales parasitados, la fracción que representa cada especie en el seno de la comunidad parasitaria a la cual pertenece (15). Por otra parte, este hecho tiene importancia significativa en la planificación de tratamientos antihelmínticos, pues, a pesar de que en el medio tropical el poliparasitismo es la regla, es conveniente evaluar el efecto de las diver-

sas asociaciones parasitarias sobre el hospedador (morbilidad, mortalidad, retardo en el crecimiento, etc), pero, con cargas similares a las conseguidas en condiciones naturales ya que el efecto patógeno de los parásitos, tal como ha sido ampliamente demostrado (2, 26), está íntimamente relacionado con la carga. Así, en aquellos casos en donde exista una especie ampliamente dominante, acompañada de otras con cargas muy bajas, se recomendaría el uso de antihelmínticos con efecto preferencial sobre la especie problema; en caso de que existiera una equi-repartición de las cargas de las diferentes especies parásitas presentes, sería necesario usar antihelmínticos de amplio espectro

Estudios realizados sobre las formas de vida libre de nematodos gastroentéricos de rumiantes han demostrado que *T. colubriformis* presenta dos estadios particularmente resistentes a las condiciones adversas del medio externo: el huevo embrionado (el cual posee una cubierta externa, poco permeable al agua, que le permite almacenarla más eficientemente) y el estadio J3 (8) Levine (15) considera a esta especie como muy resistente y afirma que esta condición puede esperarse en otras especies del género *Trichostrongylus*. Esto podría explicar la dominancia de *T. colubriformis* y *T. axei* en este estudio *H. contortus* presenta un solo estadio resistente a las condiciones adversas del medio (la forma infestante J3) ya que su etapa de huevo embrionado es muy susceptible a la desecación; esto es compensado por la elevada fecundidad de sus hembras a lo cual puede ser debida su importante posición en la comunidad de parásitos estudiados (8, 10, 15).

En lo que respecta a *O. columbianum*, se le considera parecido en resistencia a *H. contortus* pero es menos prolífico que éste (8). Euzebý (10) considera a *O. columbianum* conjuntamente con el género *Bunostomum*, como nematodos gastroentéricos poco resistentes a las condiciones climáticas adversas. Además, dadas las características de su ciclo biológico, *Bunostomum* es un parásito que persiste sobre todo en animales estabulados, lo cual puede explicar por qué se le encontró sólo en cuatro de los ovinos muestreados y únicamente en un mes (octubre).

En lo referente a *T. globulosa*, a pesar de ser favorecido porque sus huevos presentan una cubierta gruesa que le brinda una gran protección contra las condi-

ciones ambientales rigurosas, es muy susceptible a la desecación (9). La transmisión, en esta especie se efectúa por contaminación con los huevos —que son las formas infestantes— del agua de bebida y del alimento; esto probablemente lo hace estar presente en casi todos los meses muestreados, aunque con muy baja prevalencia y dominancia, dadas las condiciones de sequía reinantes en la zona en estudio.

Levine (15) afirma que el género *Cooperia* es tan resistente como *Trichostrongylus* a las condiciones ambientales adversas; sin embargo los resultados que se obtuvieron en el presente trabajo presentaron a *C. curticei* como muy poco prevalente y frecuente. Sería muy interesante evaluar la susceptibilidad de sus formas de vida libre a condiciones como las prevalentes en la zona.

Los bajos valores del coeficiente de agregación común que se obtuvieron indican que todas las especies parásitas diagnosticadas se encontraron sobredispersadas en el seno de la población de hospedadores. Esta disposición espacial es consecuencia de un amplio conjunto de procesos biológicos que se manifiestan en la heterogeneidad de dichos hospedadores en cuanto a edad, sexo, estado fisiológico e inmunológico (3, 4, 16) o bien a causa de índole genética (31), a lo cual debemos agregar la variabilidad de la capacidad infestante de las formas de invasión de los parásitos considerados y la interacción: condiciones ambientales-susceptibilidad del hospedador (4, 21).

La especie que mostró una sobredispersión más intensa fue *S. ovis*, es decir que pocos individuos concentran la mayor carga parasitaria, que puede explicarse por el hecho de que en esta especie se garantiza la formación de "paquetes" en los hospedadores, como consecuencia de la postura perianal aglomerada, lo cual, a su vez, favorece la autoinfección continua de los hospedadores al mordizquearse éstos la zona perianal para calmar el prurito causado por los huevos del parásito (1).

Por otra parte, el coeficiente de agregación común es de gran interés en el desarrollo de estrategias de combate, ya que permite la evaluación de la eficacia de sus resultados, tal como lo plantean Croll *et al.* (7) para *Ascaris lumbricoides* en humanos, y Morales *et al.* (21) en helmintos de pequeños rumiantes.

LITERATURA CITADA

1. ADAMSON, M. 1984. L'haplodiploidie des oxyurida. Incidence de ce phénomène dans le cycle évolutif. *Ann. Parasitol. Hum Comp* 59:387-414
2. ANDERSON, R. 1978. The regulation of host population growth by parasitic species. *Parasitology* 76:119-157.
3. ANDERSON, R.; GORDON, D. 1982. Processes influencing the distribution of parasite numbers within host populations, with special emphasis on parasite-induced host mortalities. *Parasitology* 85:373-398.
4. CABARET, J.; Morales, G. 1983. Strategie comparée des infestations naturelles par *Teladorsagia circumcincta* et *T. trifurcata* chez les ovins. *Parasitologia* 25:171-177
5. CANCELA DA FONSECA, J.P. 1966. L'outil statistique en biologie du sol III Indices d'intérêt écologique. *Rev. Ecol. Biol. Sol* 3:381-407.
6. CLARK, C.; TUCKER, A.; IURTON, J. 1971. Sampling technique for estimating round worm burdens of sheep and cattle. *Experimental Parasitology* 30:181-186.
7. CROLL, N.A.; ANDERSON, R.A.; GYORKOS, T.W.; GHADIRIAN, E. 1982. The population biology and control of *Ascaris lumbricoides* in a rural community in Iran. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2:187-199.
8. DONALD, A. 1973. Bionomics of the free-living stages of the gastrointestinal nematodes of sheep in relation to epidemiology, Proc. 19. University of Sydney, Austria. p. 105-119.
9. EUZEBY, J. 1961. Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine. Paris Vigot Freres. Tomo 1, Fascicule 1. 473 p.
10. EUZEBY, J. 1963. Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine. Paris Vigot Freres. Tomo 1, Fascicule 2. 843 p.
11. EUZEBY, J. 1982. Diagnostic expérimental des helminthoses animales. 2 ed. Paris "Informations Techniques des Services Vétérinaires", Ministère de l'Agriculture. 364 p.
12. EWEL, J.; MADRIZ, A.; IOSI, J. 1976. Zonas de vida de Venezuela. Venezuela, Ministerio de Agricultura y Cría, Ediciones del FONAIAP. 265 p.
13. FAO. 1967. Conférence Internationale sur les maladies des ovins. Roma. p. 75-83.
14. LEVINE, N. 1963. Weather, climate, and the bionomics of ruminant nematode larvae. *Advances in Veterinary Science* 8:215-261.
15. LYONS, K.M. 1968. The biology of helminth parasites. Londres. Edward Arnold. 61 p.
16. MARGOLIS, L.; ESCH, G.; HOLMES, J.; KURIS, A.; SCHAD, G. 1982. The use of ecological terms in parasitology. p. 131-133.
17. MORALES, G.; PINO, L.A. 1977. Manual de diagnóstico helmintológico en rumiantes. Venezuela. Colegio de Médicos Veterinarios del Estado Aragua. 100 p.
18. MORALES, G. 1981. Helminthos gastrointestinales en un rebaño de ovinos. *Veterinaria Tropical* 5:69-71.
19. MORALES, G.; PINO, L.A.; ALDANA, E.; PERDOMO, L.; MOLINA, E. 1986. Caracterización microecológica de nematodos parásitos presentes en caprinos de zonas áridas de Venezuela. Rio de Janeiro. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. p. 199-205.
20. MORALES, G.; PINO, L.A.; PERDOMO, L. 1986. Comparación de la infestación natural por helminthos en ovinos y caprinos de zonas áridas de Venezuela. Venezuela. *Rev. Fac. Cs. Veterinarias* (En Prensa).
21. RABINOVICH, J. 1980. Introducción a la ecología de poblaciones animales. México. C.E.C.S.A. 313 p.
22. REVERON, A. 1983. Situación actual de la producción ovina y caprina. Maracay. Instituto de Investigaciones Zootécnicas, FONAIAP-CENIAP. 18 p.
23. RIVAS, E. 1980. Estadística aplicada. Caracas. Universidad Central de Venezuela. 291 p.
24. ROJAS, B. 1964. La binomial negativa y la estimación de intensidad de plagas en el suelo. *Fitotecnia Latinoamericana* 1:27-37.
25. SKERMAN, K.; HILLARD, J. 1966. A hand book for studies of helminth parasites of ruminants. Roma, FAO. 183 p.
26. SOULSBY, E.J. 1982. Helminth, arthropods and protozoa of domesticated animals. Londres. Balliere Tindall. 809 p.
27. SOUHWOOD, I.R. 1975. Ecological methods. Londres. Chapman & Hall. 391 p.
28. SPEEDING, C.R. 1968. Producción ovina. Academia, España. 413 p.
29. THOMAS, R. 1974. The role of climate in the epidemiology of nematode parasitism in ruminants. The effects of meteorological factors upon parasites. Ed. por A. Taylor, R. Müller. *Symposia of the British Society for Parasitology*. Londres. Blackwell Scientific Publications, v. 12, p. 13-32.
30. WAKELIN, D. 1985. Genetic control of immunity to helminth infections. *Parasitology Today* 1:17-23.

Effects of Shifting Cultivation on a Tropical Rain Forest Soil in Southwestern Nigeria¹

A O Aweto*

ABSTRACT

The chemical and physical properties of soils (Oxisols) in shifting cultivation sites in southwestern Nigeria were compared with those of soils under rain forest. The levels of organic matter, total nitrogen and exchangeable calcium, magnesium, potassium and sodium in shifting cultivation sites are lower than forest soils. The extent of organic matter and nutrient decline in shifting cultivation soil, relative to forest levels, is greater in the 0-10 cm layer than in the 10-30 cm layer. Soils in shifting cultivation sites had higher bulk densities and lower total porosities.

INTRODUCTION

As with most countries in the tropics, shifting cultivation is the dominant system of arable farming in Nigeria. Agronomic studies on shifting cultivation in Nigeria have focused on soil dynamics under experimental continuous cropping (1, 10); finding planted fallow substitutes to replace the natural bush fallow (8, 10); changes in the properties of soils under natural bush fallows over time (2, 3); and on the effects of land clearing on soil properties (12). These studies have made valuable contributions to an understanding of shifting cultivation and the problems of intensifying it, but have largely ignored changes in soil properties that occur during the cropping phase of the shifting cultivation cycle. Such soil changes have been documented generally for the tropics by Nye and Greenland (11). Soil and ecological condition vary considerably in the tropics. So do crops grown, nature and restorative ability of fallow vegetation, climatic conditions and length of cropping relative to fallowing. Hence, studies such as those of Nye and Greenland (11), which give an overview of the general features of shifting cultivation in the tropics, should be complemented with studies that are area-specific or soil-specific. This is necessary to ensure that blanket measures are not taken to inten-

COMPENDIO

Las propiedades físicas y químicas de los suelos Oxisoles en sitios en donde se practica la agricultura migratoria se compararon con aquellas de suelos existentes en forestas tropicales húmedas. Los niveles de materia orgánica, nitrógeno total y calcio, magnesio, potasio y sodio intercambiables en suelos bajo cultivo migratorio son más bajos que en suelos de forestas húmedas. El nivel de disminución de la materia orgánica y de los nutrimentos en suelos bajo agricultura migratoria, en relación con los suelos forestales, es mayor en la capa 0 a 10 cm de la superficie del suelo que en la capa 10 a 30 cm. Los suelos bajo agricultura migratoria presentaron mayores densidades masales y porosidades totales más bajas.

sify shifting cultivation in the tropics and that the measures adopted take full cognisance of the ecological and pedological conditions of the area in question.

The present study examines the effects of the cropping phase of shifting cultivation on an Oxisol in the rain forest zone of southwestern Nigeria by comparing the physical and nutrient status of soils in shifting cultivation sites at the cessation of cropping with soils in forest control sites

The study area

The present study was carried out in the Ibeju – Ode area, part of the coastal plain of southwestern Nigeria. The climate is hot, humid sub-equatorial with a double-peak rainfall regime. The mean annual rainfall is between 1 300 and 1 600 mm and the natural vegetation is tropical rain forest. Most of the original rain forest has been destroyed as a result of the prevalent practice of shifting cultivation. Remnants of the originally continuous forest cover are now confined to forest reserves and sacred groves. The rain forest is floristically diverse, with some trees over 30 m tall. Some of the major tree species include *Chlorophora excelsa*, *Lannea welwitschii*, *Antiaris africana*, *Bosqueia angolensis* and *Pentaclethra macrophylla*.

The soils are Oxisols. They were derived from sandstone parent material and have been intensively leached. Kaolinite is the dominant clay mineral in the soils.

¹ Received for publication 5 September 1987.

* Department of Geography, University of Ibadan, Ibadan, Nigeria.

Cassava and maize are the main crops grown in the study area. These are frequently intercropped with pepper, melon and yams. Farmlands are cultivated for 1-3 years and thereafter fallowed for 3-10 years depending on soil fertility and the amount of land available to the community.

MATERIALS AND METHODS

Soils in shifting cultivation sites were compared with those in sites under mature rain forest to infer the effects of shifting cultivation on soil properties. The former were sampled at the end of cropping. The shifting cultivation and forest sites were located on flat and gently sloping summits of topographical sequences in an area of uniform parent material (sandstone) to ensure that catenary variations in soil properties were minimal. Soil samples were collected from depths of 0-10 cm and 10-30 cm in sampling sites which measured 30 m x 30 m. Ten plots each were studied for shifting cultivation and rain forest sites. Bulk soil samples collected were air-dried, passed through a 2 mm sieve, and analysed for organic carbon by the method of Walkley and Black (15). Uncorrected organic carbon values were converted into soil organic matter by multiplying by a factor of 1.274. Total nitrogen was determined by the Kjeldahl method. Soils were leached with 1M neutral ammonium acetate and the extracts used for determining soil exchangeable cations. Exchangeable calcium, potassium and sodium were determined by flame photometry and magnesium by atomic absorption spectrophotometry. Soil cation exchange capacity was determined as the sum of the exchangeable cations and exchange acidity (5). Soil particle size composition was determined using the hydrometer method. Undisturbed core samples collected from the 0-10 cm layer were analysed for bulk density using the core method (4), while total porosity values were

calculated from bulk density values using an assumed particle density value of 2.65 g cm^{-3} (14). Bulk density and total porosity were analysed for only the 0-10 cm layer.

RESULTS

Table 1 shows the properties of the 0-10 cm layer of soils under rain forest and in shifting cultivation sites. The mean organic matter content of the shifting cultivation sites is low, being 46.3% of the mean forest level. Similarly, the levels of total nitrogen, exchangeable calcium, magnesium, potassium and sodium and the cation exchange capacity of the shifting cultivation sites are significantly lower than the levels in forest soils. Organic matter and nutrient levels in the 10-30 cm layer under shifting cultivation are also generally lower than the levels in the corresponding layer of forest soil. However, the extent of organic matter and nutrient diminution is greater in the 0-10 cm layer of the profiles than in the underlying 10-30 cm layer. The mean level of organic matter in the 0-10 cm layer of shifting cultivation sites was reduced to 46.3% of forest level, while that of 10-30 cm was reduced to 78.6% of the level in the corresponding layer of forest soil. The mean levels of exchangeable calcium, magnesium and potassium in 0-10 cm layer of soils under shifting cultivation were reduced to between 36% and 59% of forest soil levels. The same nutrients were reduced to between 75% and 85% of mean forest levels in the 10-30 cm layer. There are no significant differences between soils under shifting cultivation and rain forest with respect to the levels of total nitrogen and exchangeable calcium and sodium in the 10-30 cm layer. Again, this points to the fact that the effects of shifting cultivation on nutrient decline in the soil are more marked in the topsoil layer than in the subsoil layer.

Table 1. Properties of the 0-10 cm layer of cultivated and forest soil. Values are means \pm standard error. N = 10.

Soil properties	Cultivated soil	Forest soil
Organic matter (%)	2.5 \pm 0.18	5.4 \pm 0.14
Total nitrogen (%)	0.19 \pm 0.01	0.49 \pm 0.04
Exchangeable calcium (kg/ha)	504.7 \pm 37.1	1 029.6 \pm 146.1
Exchangeable magnesium (kg/ha)	156.7 \pm 9.7	265.4 \pm 21.6
Exchangeable potassium (kg/ha)	24.2 \pm 6.7	67.3 \pm 20.3
Exchangeable sodium (kg/ha)	18.0 \pm 7.0	46.6 \pm 6.4
C E C (m.e./100 g of soil)	8.4 \pm 0.6	17.7 \pm 1.0
Bulk density (g/cm^3)	1.19 \pm 0.03	0.98 \pm 0.01
Total porosity (%)	54.4 \pm 1.0	63.2 \pm 0.3
Sand (%)	91.6 \pm 0.4	81.6 \pm 1.8
Silt (%)	3.4 \pm 0.2	10.1 \pm 1.0
Clay (%)	5.0 \pm 0.4	8.2 \pm 1.2

Table 2. Properties of the 10-30 cm layer of cultivated and forest soil. Values are means \pm standard error. N = 10.

Soil properties	Cultivated soil	Forest soil
Organic matter (%)	1.1 \pm 0.04	1.4 \pm 0.12
Total nitrogen (%)	0.10 \pm 0.01	0.11 \pm 0.01
Exchangeable calcium (kg/ha)	465.1 \pm 49.7	549.5 \pm 108.9
Exchangeable magnesium (kg/ha)	165.6 \pm 7.7	207.7 \pm 21.1
Exchangeable potassium (kg/ha)	21.6 \pm 1.3	28.7 \pm 2.6
Exchangeable sodium (kg/ha)	42.0 \pm 1.5	41.1 \pm 1.3
C E C (m e /100 g of soil)	4.7 \pm 0.17	6.9 \pm 0.49
Sand (%)	90.9 \pm 1.0	74.3 \pm 1.7
Silt (%)	2.2 \pm 0.2	10.0 \pm 1.1
Clay (%)	6.9 \pm 1.0	15.7 \pm 1.5

Shifting cultivation has adverse effects on soil physical status (Table 1) as compared to soils under rain forest. The mean bulk density of the 0-10 cm layer of soils in the shifting cultivation sites is significantly higher than that of forest soil, indicating that shifting cultivation results in soil compaction. Also, the mean total porosity of shifting cultivation soil is lower than that of forest soil (Table 1). This suggests that soils in the shifting cultivation sites are less porous and hence less permeable to water and air than forest soil. Soils in shifting cultivation sites are more sandy than forest soils. This is presumably due to vigorous downward eluviation of silt and clay particles during cultivation, owing to site exposure. The higher clay content of forest soils may be partly attributable to greater earthworm activity under forest.

DISCUSSION

The levels of organic matter in the shifting cultivation sites are low compared to soils under mature rain forest. This indicates that soil organic matter declines during shifting cultivation, due to site exposure, a reduction in litter quantity and the disruption of litter supply to the soil during cultivation. Site exposure results in high soil temperatures and accelerated soil organic matter oxidation (11). As with organic matter, there is a decline in the levels of total nitrogen and exchangeable calcium, magnesium, potassium and sodium in the 0-10 cm layer of soils in the shifting cultivation sites. The decline in the levels of nutrients during the cropping phase of shifting cultivation is due to nutrient removal in harvested crops, leaching and erosion (11), and also to a decline in organic matter. Organic matter is a source and store of soil nutrients and is the main contributor to the cation exchange capacity of kaolinitic tropical soils such as occur in the study area. Hence, a decline in soil organic matter will result in a reduction in soil nutrient-

adsorbing capacity, which in turn will lead to increased leaching of nutrients from the soil. Organic matter and nutrient diminution is a universal feature of shifting cultivation and has been reported for various parts of the tropics by Joachim and Kandiah (9), Nye and Greenland (11), Cowgill (6) and Ramakrishnan and Toky (13). The extent of nutrient decline is controlled by several factors, including types of crops grown, length of cultivation, cultural practices, cropping intensity, climatic conditions and intrinsic soil nutrient status. Cowgill (6) observed that shifting cultivation had little effect on the exchangeable calcium status of soils derived from limestone that were cultivated for two years. This is mainly because the soils were very rich in exchangeable calcium, having formed from limestone. In contrast, the results of the present study indicate that shifting cultivation leads to a substantial decline in the levels of exchangeable calcium and other nutrients in soils cultivated for 1-2 years. Soils in the study were derived from sandstone parent material which is deficient in mineral nutrients. Thus, the soils are of low nutrient status and are therefore prone to nutrient exhaustion during cropping if fertilizers are not applied during cultivation.

The extent of nutrient and organic matter decline in shifting cultivation soil (relative to forest level) is greater in the topsoil layer (0-10 cm) than in the subsoil layer (10-30 cm). This is to be expected for the following reasons. First, the topsoil is exposed to the direct impact of adverse weather phenomena, including intense solar radiation following site clearance resulting in thermally-induced soil organic decomposition and mineralisation. Secondly, the soil erosion that results in considerable loss of organic matter and nutrients from shifting cultivation sites is confined to the topsoil layer. Finally, there is a net loss of nutrients from the topsoil to the subsoil due to leaching.

Soil physical status deteriorated as a result of shifting cultivation. Soils in the shifting cultivation sites are more compact and less porous than forest soil. This is mainly due to site exposure prior to and during cultivation (crops such as cassava, maize and yams grown in the study area do not completely cover the ground), tillage prior to cultivation and to organic matter diminution. The implication of a reduction in porosity in cultivated sites is that permeability will decrease; hence surface runoff and soil erosion will increase appreciably, leading to further loss of soil nutrients and deterioration in soil physical status.

Site exposure appears to be the major factor accounting for deterioration in soil chemical and physical status during the cropping phase of shifting cultivation. Cunningham (7) observed that site exposure alone, following three years of forest clearance, resulted in a 57% drop in the level of organic matter

in the top 5 cm of the soil profiles, while soil total nitrogen and cation exchange capacity were reduced to 47% and 35% of their respective initial levels under rain forest. The soil became more compact, while total porosity and the proportion of water-stable aggregates in the soil were substantially reduced. A way of conserving soil physical and nutrient status during the cropping phase of shifting cultivation, therefore, would be to adopt measures such as mulching, which ensures that the soil is covered as much as possible. The application of artificial mulch is beyond the technical and financial capability of farmers in the study area, who would find it easier to apply trash of cleared fallow vegetation, crop and weed residues as mulch.

ACKNOWLEDGEMENT

The author is indebted to Mr. Ezekiel Akinwumi for his considerable assistance during the field work.

LITERATURE CITED

1. AGBOOLA, A.A. 1970. Preliminary investigation on the effect of continuous cropping of maize on grain yield and on total nitrogen, available phosphorus and exchangeable potassium on three Nigeria soils. *Nigerian Journal of Science* 4:89-99.
2. AREOLA, C. 1980. Some issues and problems in studying savanna fallows. *African Environment* 13:51-62.
3. AWETO, A.D. 1981. Organic matter build-up in fallow soil in a part of south-western Nigeria and its effects on soil properties. *Journal of Biogeography* 8:67-74.
4. BLAKE, G. 1965. Bulk density. In *Methods of Soil Analysis*. Ed by Black, C.A. Madison. American Society of Agronomy. p. 374-390.
5. CHAPMAN, H.D. 1965. Cation exchange capacity. In *Methods of Soil Analysis*. Ed by Black, C.A. Madison. American Society of Agronomy. p. 891-901.
6. COWGILL, U.M. 1962. An agricultural study of the southern Maya lowlands. *American Anthropologist* 64:273-286.
7. CUNNINGHAM, R.K. 1963. The effect of clearing a tropical forest soil. *Journal of Soil Science* 14:334-345.
8. JAYEBO, E.O.; MOORE, A.W. 1964. Soil fertility and nutrient storage in different sub-vegetation systems in a tropical rain forest environment. *Tropical Agriculture (Tri.)* 41:129-143.
9. JOACHIM, A.W.; KANDIAH, S. 1948. The effect of shifting (chena) cultivation and subsequent regeneration of vegetation on soil composition and structure. *The Tropical Agriculturist* 104:3-11.
10. JUO, A.S.R.; LAL, R. 1977. The effect of fallow and continuous cultivation on the chemical and physical properties of an alfisol in the tropics. *Plant and Soil* 47:567-584.
11. NYE, P.H.; GREENLAND, D.J. 1960. The soil under shifting cultivation. Commonwealth Bureau of Soils. Harpenden. Technical Communication no. 51.
12. OPARA-NADI, O.A.; LAL, R.; GHUMAN, B.S. 1986. Effects of land clearing methods on soil physical and hydrological properties in southwestern Nigeria. In *Land Clearing and Development in the Tropics*. Ed. by Lal, R., Sanchez, P.A., Cummings R.W. Rotterdam. A.A. Balkema Publishers. p.215-225.
13. RAMAKRISHNAN, P.S.; TOKY, O.P. 1981. Soil nutrient status of hill agro-ecosystems and recovery pattern after slash and burn agriculture (Jhum) in north-eastern India. *Plant and Soil* 60:41-63.
14. VOMOCIL, J.A. 1965. Porosity. In *Methods of Soil Analysis*. Ed by Black, C.A. Madison. American Society of Agronomy. p. 299-314.
15. WALKLEY, A.; BLACK, I.A. 1934. An examination of the Detjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification to the chromic acid titration method. *Soil Science* 37:29-38.

Estudios Fenológicos en Malezas de Arrozales Cultivados en Chile Central¹

J. San Martín*, D. Contreras**, C. Ramírez**

ABSTRACT

Rice fields of Central Chile suffer the invasion of large numbers of aquatic and marsh weeds, which diminish yields. This study compares the phenological development of the most important rice field weeds with that of a rice crop during the 1982-1983 growing season in the region of Pelarco (Talca province, Seventh or Maule Region, Chile). Cultivation began in August and September with plowing and forming of the rice fields. Rice sowing took place in November. The phenological development of rice as well as the phenological development of 13 weeds in the fields was controlled weekly, for five individuals of each species. The phenophases studied were: emergence, growth, flowering, fruiting and senescence. Several weeds sprouted before the rice, showing a faster development. After rice sprouting, *Carex canescens*, *Cyperus haspan*, *Polygonum persicaria*, *P. aviculare*, *Ammannia coccinea* and *Typha angustifolia* emerged. *Typha angustifolia*, does not flower in the field. Most weeds flowered before rice. Some are able to set fruit before anthesis of rice occurs. Such is the case for *Echinochloa crusgalli*, *Cyperus haspan*, *Lythrum hissoipifolia*, *Polygonum persicaria*, *P. aviculare*, *Ammannia coccinea* and *Paspalum distichum*. Five of these weeds were able to flower and set fruit for a second time during the rice growing season, this time in unison with the crop. *Myosotis laxa* ends its life cycle before rice flowering. Almost all weeds produce diaspores before or together with the cultivated plant as a way of ensuring their permanence in the field.

INTRODUCCION

En Chile, el cultivo del arroz se realiza en superficies anegadas durante varios meses en el año (18) y en condiciones especiales que son aprovechadas por algunas malezas acuáticas y palustres, que, escapando de su hábitat natural (vegas, pantanos, arroyos y canales), invaden y se establecen en este medio artificial. Muchas de ellas son especies alóc-

COMPENDIO

Los arrozales de Chile Central son invadidos por una gran cantidad de malezas acuáticas y palustres que disminuyen su rendimiento. Este estudio compara el desarrollo fenológico de las malezas más importantes con el de la planta cultivada, en un arrozal de la región de Pelarco (provincia de Talca, Séptima Región de Chile), durante el período de cultivo 1982-1983. El cultivo se inició en agosto y setiembre de 1982, con la roturación del suelo y la formación de los paños. La siembra se realizó en noviembre. El desarrollo fenológico del arroz y de 13 malezas fue controlado semanalmente en terreno, en cinco individuos de cada especie. Las fenofases consideradas fueron: emergencia, crecimiento, floración, fructificación y senescencia. Muchas malezas, que tienen un rápido desarrollo, brotan antes que el arroz. Después de él, lo hacen *Carex canescens*, *Cyperus haspan*, *Polygonum persicaria*, *P. aviculare*, *Ammannia coccinea* y *Typha angustifolia*. Esta última no alcanza a florecer en el arrozal. La mayoría de las malezas florece antes que el arroz y algunas incluso, fructifican antes de la anthesis de la planta cultivada. Tal es el caso de *Echinochloa crusgalli*, *Cyperus haspan*, *Lythrum hissoipifolia*, *Polygonum persicaria*, *P. aviculare*, *Ammannia coccinea* y *Paspalum distichum*. Cinco de estas florecen y fructifican dos veces, en la segunda ocasión, junto con el arroz; *Myosotis laxa* termina su ciclo de vida antes de que aquel florezca. Casi todas las malezas producen diásporas antes o junto con la planta cultivada, asegurando así su permanencia en el arrozal.

tonas, introducidas al país conjuntamente con las semillas del arroz, y colonizan estos terrenos, los cuales se mantienen en situaciones de anegamiento, como también, los rastrojos, durante el período invernal (17). Las malezas que acompañan al arroz presentan un cuerpo adaptado a la vida acuática o semiacuática, compitiendo con el cultivo por luz, agua y nutrimentos, mientras dura el ciclo de desarrollo del cultivo (1, 2).

El presente estudio analiza la fenología de las principales y más abundantes malezas de los arrozales chilenos, en comparación con el desarrollo del arroz, en la temporada de cultivo 1982/83.

El lugar seleccionado para esta investigación fue un predio arrocero, denominado San Francisco, situado 3 km al norte del poblado de Pelarco (35° 21' 48" de latitud Sur y 71° 52' 54" longitud oeste) en la pro-

¹ Recibido para publicación el 5 de diciembre de 1987. Financiamiento parcial de la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad Austral de Chile (Proyecto No. RSM - 80 - 30).

* Pontificia Universidad Católica de Chile, Sede Talca.

** Instituto de Botánica, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

vincia de Talca, Séptima Región del Maule, Chile Central (Fig 1).

El clima de la región es de tipo mediterráneo. Presenta una precipitación promedio anual de 712.8 mm, concentrada en los meses de invierno y una temperatura mínima promedio de 7.7°C, como promedios máximos, caracterizan el periodo estival (3). Por su clima, esta región presenta la más alta productividad natural en Chile (9).

Los suelos son de origen aluvial y en su composición entran arcillas, capas endurecidas de tosca y concreciones en los horizontes inferiores (13). Las propiedades químicas del suelo en el lugar trabajado se indican en el Cuadro 1.

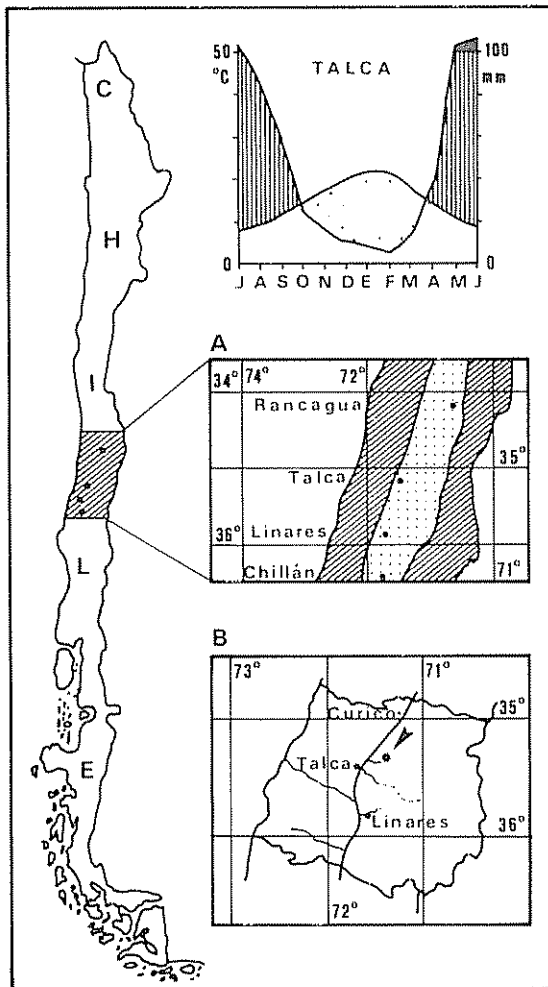


Fig. 1. Zona arrocera de Chile (A) y ubicación del lugar de trabajo (B). El diagrama climático corresponde a la ciudad de Talca, según Hajek y Di Castri (6).

Cuadro 1. Propiedades químicas del suelo en el arrozal trabajado.

pH 1:2.5 (agua)	5.60
Porcentaje carbono orgánico	1.32
Porcentaje materia orgánica	2.30
Capacidad intercambio catiónico	13.01
Potasio intercambiable meq/100	0.18
Sodio intercambiable meq/100	0.51
Calcio intercambiable meq/100	4.59
Magnesio intercambiable meq/100	1.43
Porcentaje saturación de bases	51.60
Porcentaje nitrógeno total	0.06
Relación carbono/nitrógeno	22.00
Fósforo aprovechable ppm	2.28

Para el cultivo del arroz en esta región, las faenas se inician en los meses de agosto y setiembre, con la roturación del terreno, confección de pretilas, nivelación de zonas disperejas y finalizan con la inundación y riego de los paños mediante circulación de agua. La semilla del arroz fue previamente germinada en sacos sumergidos en canales o pozas; se siembra "a voleo" durante los meses de octubre o noviembre. El cultivo se mantiene inundado hasta el mes de marzo, drenándolo una semana antes de iniciar la cosecha (16).

MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó en el periodo comprendido entre los meses de agosto de 1982 y marzo de 1983, tiempo de duración del cultivo en esa temporada. Se trabajó en un paño con una superficie de 162 m² (18 x 9 m), alimentado directamente por un canal de regadío y separado del resto del arrozal por pretilas. Este paño se expuso al mismo manejo que el agricultor dio a su cultivo: sistema de siembra, anegamiento y aplicación de fertilizante (urea) y sólo fue excluido del control de malezas que se aplicó al resto del cultivo a los 44 días después de la siembra. El arroz de este cultivo correspondió a la variedad oro de *Oryza sativa*.

El desarrollo del arroz y de las 13 malezas más importantes fue seguido durante todo el periodo de manejo normal del cultivo, practicándose varias mediciones, en las fechas que se indican en el Cuadro 2. La fenología del arroz y de las malezas seleccionadas fue controlada en cinco individuos de cada especie. Las fenofases observadas fueron: emergencia, crecimiento vegetativo, floración, fructificación y senescencia, determinando su inicio y desarrollo de acuerdo a las metodologías propuestas por Dierschke (4),

Cuadro 2. Fechas de control de las fenofases y tratamientos recibidos por el cultivo trabajado.

Año	Mes	Día	Tratamiento
1982	noviembre	8	Inicio del anegamiento
		14	Siembra
		30	
	diciembre	6	
		14	
		21	
27			
1983	enero	4	
		10	
		17	
		24	
		31	
	febrero	1	
		7	
		15	
		21	
		28	
		29	
	marzo	7	Interrupción del anegamiento
		11	
		14	Inicio de la cosecha
		17	
18			
		19	Término de la cosecha

Montaldo y Paredes (11) y Ramírez y Añazco (14). Las especies de malezas consideradas y sus formas de vida se indican en el Cuadro 3.

Se registró semanalmente la altura del nivel del agua en el paño para conocer sus fluctuaciones, las cuales suelen ser pronunciadas. Además, en las mismas fechas, se controló la temperatura del agua del paño y la del canal de regadío. Como referencia, se midió la temperatura del aire a 30 cm sobre el nivel del agua (entre los culmos del arroz) y a 1.30 m sobre el cultivo. Todas estas mediciones térmicas se realizaron en períodos diarios de 10 horas y a intervalos de una hora, en la época de muestreo.

RESULTADOS

Variaciones del nivel del agua

Durante todo el proceso del cultivo, especialmente en su primera mitad, las fluctuaciones del nivel del agua en el paño controlado fueron significativas, tendiendo a presentar con posterioridad un nivel más uniforme. En el mes de diciembre, se registró escasez de agua, mientras que el máximo anegamiento se controló en enero (Fig. 2). Estas fluctuaciones irregulares se deben a problemas de regadío en la zona, los cuales alteran no sólo el desarrollo del arroz sino también el de las malezas.

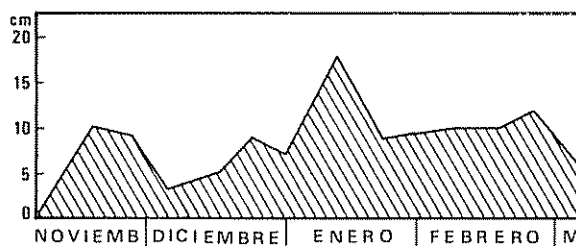


Fig. 2. Fluctuaciones del nivel del agua del cultivo trabajado.

Variaciones térmicas

Como era de esperar, en todos los meses hay un ascenso de la temperatura desde la mañana a la tarde (Fig. 3). En noviembre, cuando aún no emergía el arroz, la curva de la temperatura del agua del paño está siempre por sobre la del aire, debido al bajo nivel de aquella. Estas altas temperaturas del agua son perjudiciales para las plántulas que están por emerger. A partir del mes de diciembre, las temperaturas se presentan más homogéneas en los diferentes estratos. Durante la mañana, las curvas corren muy juntas, pero, en la tarde comienzan a separarse: abajo, las del agua del paño y del canal, y arriba, las del aire, que han sido medidas tanto en el arroz como sobre el cultivo. En enero y febrero la temperatura

del aire tiende a ser superior. Se observa aquí una gran homogeneidad entre la temperatura del agua del canal y la del paño, con aquella medida en el centro del cultivo de arroz. En el mes de marzo las temperaturas del agua se separan de las del aire, aunque siempre se mantiene muy alta la curva de la temperatura del aire, que se ha medido sobre el cultivo.

La Fig. 4 muestra la variación de la temperatura registrada en la mañana, al medio día y en la tarde, en todos los meses de cultivo. En los tres casos, las temperaturas más altas del aire se produjeron en el mes de enero; en cambio, para el agua, las más altas se midieron en diciembre al medio día y, en enero, se efectuaron en la mañana y en la tarde. Como era de esperar, en la mañana, las curvas de la temperatura del agua siempre son más altas, por la gran capacidad calórica de ella. Al medio día, sólo en el mes de diciembre, la temperatura del agua todavía es más alta que la del aire. Con posterioridad, ambas curvas corren juntas y, a partir del mes de enero, comienzan a separarse manteniendo una posición más alta la temperatura del aire y descendiendo mucho la del agua. Esto se hace más notorio en la tarde, cuando sólo en los primeros días de diciembre la temperatura del agua es más alta que la del aire. Sin embargo, a mediados de este mes, se revierte el orden y se mantiene la primacía de la temperatura del agua. En general, se observa un aumento de la temperatura desde diciembre a enero y luego, un descenso paulatino hasta el mes de marzo.

Fenología

Las variaciones fenológicas del arroz y de las malezas se ilustran en el diagrama de la Fig. 5 donde las especies se han ordenado por orden de emergencia. A continuación se exponen estos resultados en detalle.

Cuadro 3. Malezas investigadas y sus formas de vida.

Especie	Autor	Familia	Nombre común	Forma de vida
<i>Alisma lanceolatum</i>	L.	Alismataceae	Hualtata	Hemicriptófito
<i>Ammannia coccinea</i>	Roth.	Lythraceae		Terófito
<i>Carex canescens</i>	L.	Cyperaceae	Cortadera	Hemicriptófito
<i>Cyperus haspan</i>	(Nees) Kük	Cyperaceae		Terófito
<i>Echinochloa crusgalli</i>	(L.) Beauv	Poaceae	Hualcacho	Terófito
<i>Eleocharis macrostachya</i>	Britton	Cyperaceae	Quilmén	Hemicriptófito
<i>Jussiaea repens</i>	L.	Onagraceae	Hierba de la rana	Hidrófito
<i>Lythrum hyssopifolia</i>	L.	Lythraceae	Romerillo	Terófito
<i>Myosotis laxa</i>	Lehm	Borraginaceae	No me olvides	Terófito
<i>Paspalum distichum</i>	L.	Poaceae	Chépica	Hemicriptófito
<i>Polygonum aviculare</i>	L.	Polygonaceae	Hierba del pollo	Caméfito
<i>Polygonum persicaria</i>	L.	Polygonaceae	Duraznillo	Terófito
<i>Typha angustifolia</i>	L.	Typhaceae	Vatro	Criptófito

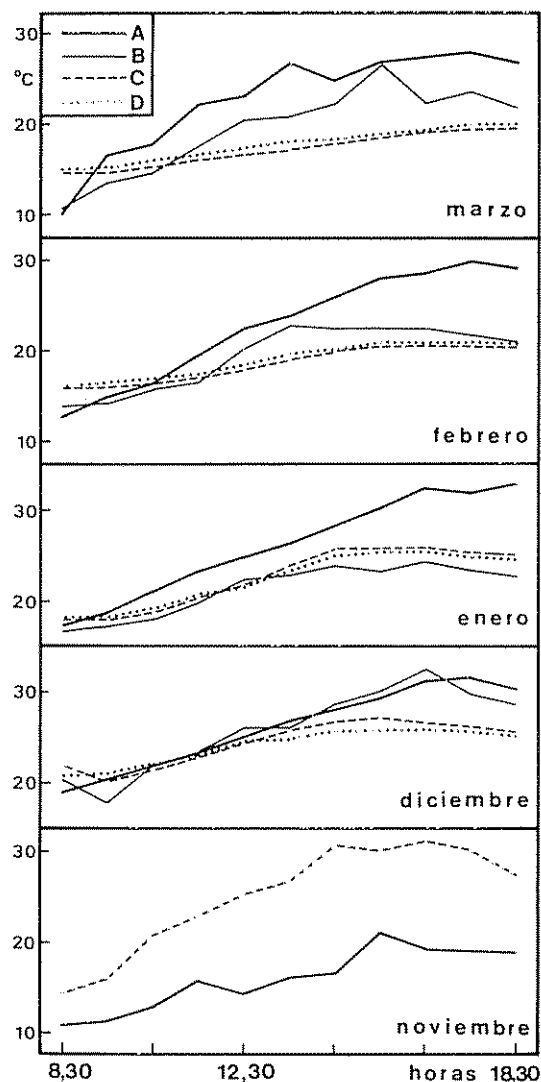


Fig. 3. Variaciones diarias de la temperatura en los meses de noviembre a marzo en el aire (A), en medio de las plantas de arroz (B), en el agua del paño (C) y del canal de regadío (D), en el lugar de trabajo.

Oryza sativa: El "arroz" fue sembrado el 14 de noviembre; a fines de este mismo mes, sus hojas emergían del agua. El período de crecimiento vegetativo abarcó los meses de diciembre y enero. En febrero formó flores y frutos. En marzo comienza la senescencia de sus culmos y se practica la cosecha.

Paspalum distichum: Es la primera maleza que emerge del agua en el paño. Como es una planta

perenne y rizomatosa, brota a partir de estos órganos subterráneos que sobreviven a la roturación del suelo. Esta especie muestra un activo crecimiento durante todo el cultivo. Su período de floración es amplio, abarcando todo el mes de enero. Las semillas se forman y caen a fines de enero y comienzos de febrero, por lo que las diásporas de esta especie yacen maduras en el suelo, antes de que floresca el arroz. Después de la cosecha, este pasto permanece vegetativamente en el rastrojo

Eleocharis macrostachya: Esta maleza, típicamente palustre, emerge tempranamente, mucho antes que el arroz. Presenta un activo crecimiento durante todo el cultivo. Por ser especie perenne, brota de rizomas subterráneos. Esta especie presenta dos períodos de floración y fructificación. El primero se inicia en diciembre y se completa a mediados de enero. A fines de este mes se forman nuevos culmos floríferos que fructifican cuando el arroz está en plena floración. Esta maleza, a pesar de poseer un rizoma, presenta además una alta producción de semillas.

Lythrum hyssopifolia: Esta maleza emerge tempranamente pero su desarrollo vegetativo se detiene en febrero, presentando un corto período de senescencia. Luego, desaparecen sus vástagos aéreos del cultivo. Florece y fructifica en enero, antes que el arroz. Esta es una especie anual que completa su ciclo de vida en un tiempo muy corto, compitiendo con el arroz sólo en las primeras etapas del cultivo.

Echinochloa crusgalli: El "hualcacho" emerge unos días antes que el arroz. Su crecimiento es muy rápido, floreciendo y fructificando en el mes de enero, con culmos que sobrepasan el tamaño de la planta cultivada. Posteriormente, en febrero, presenta un segundo período de floración y fructificación que coincide con el del arroz. A fines de febrero, sus culmos entran en senescencia y sus semillas se depositan en el sustrato. La producción de semillas de esta especie es alta. Esta especie está perfectamente adaptada al ciclo de vida del cultivo.

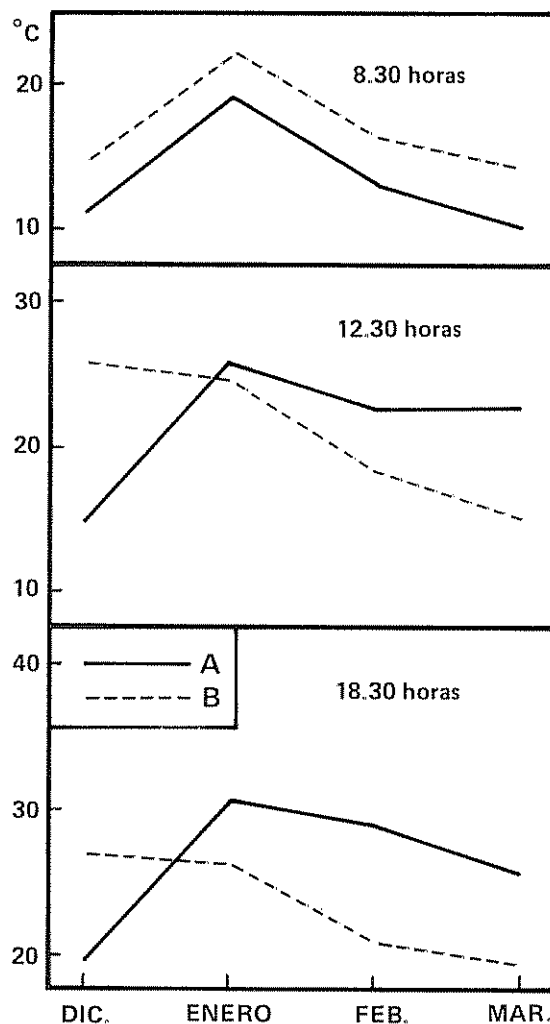


Fig. 4 Variación mensual de la temperatura del aire (A) y del agua del paño (B), en la mañana, a mediodía y por la tarde en el lugar de trabajo.

Myosotis laxa: Esta planta anual no compete directamente con el cultivo, ya que sus vástagos aéreos se desarrollan y completan su ciclo de vida mucho antes de la floración y fructificación del arroz. Recién brotados y emergidos los vástagos comienzan a florecer, completándose esta fase en el mes de diciembre, época en que fructifican e inmediatamente comienza su senescencia. A mediados de enero esta planta desaparece totalmente del cultivo, permaneciendo sus diásporas en el suelo.

Jussiaea repens: Esta maleza emerge del agua muy poco antes que el arroz y crece vegetativamente con vástagos que reptan sobre el agua, ramificándose y formando rosetas de hojas natantes. Este proceso es muy largo y sólo en el mes de febrero se forman vástagos aéreos portadores de flores. Esta planta es la única de las malezas controladas que florece y fructi-

fica simultáneamente con la planta cultivada. Sus rizomas permanecen en el suelo después del drenaje del terreno

Alisma lanceolatum: La "hualtata" es una maleza perenne que emerge casi simultáneamente con el arroz. Su crecimiento vegetativo es vigoroso durante todo el anegamiento. Sin embargo, florece y fructifica mucho antes que el arroz en el mes de enero. Esta es una maleza de las más agresivas del cultivo. Por casualidad, se observó una herbivoría selectiva de cerdos sobre esta maleza.

Polygonum aviculare: El "pasto del pollo" es una maleza perenne que emerge del agua un poco más tarde que la planta de cultivo. Su desarrollo vegetativo es muy rápido, formando vástagos floríferos en el mes de diciembre, los que fructifican a fines del mismo mes. En enero esta especie presentó una segunda floración y fructificación. La senescencia se inicia en el mes de febrero.

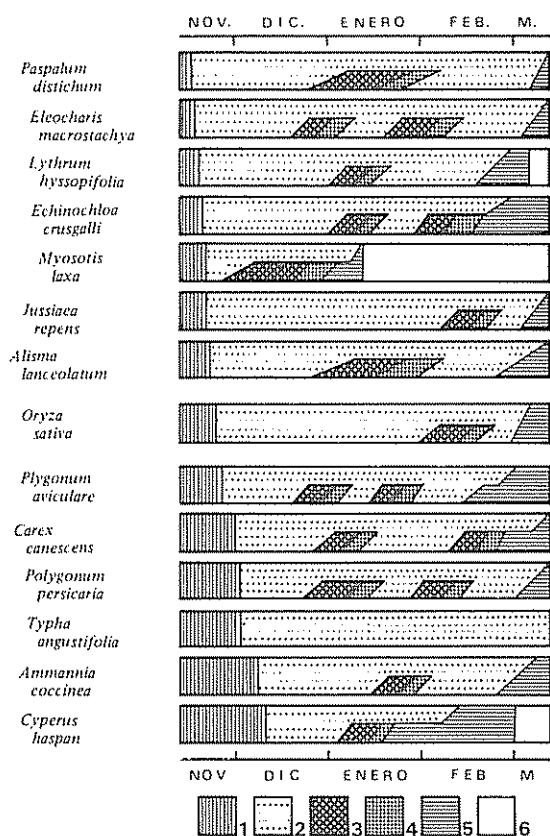


Fig. 5 Diagrama fenológico del arroz y las malezas investigadas, ordenadas por orden de emergencia. 1 = etapa sumergida, 2 = crecimiento vegetativo, 3 = floración, 4 = fructificación, 5 = senescencia y 6 = diásporas en el suelo.

Carex canescens: Esta especie de cortadera emerge sobre el agua del paño a fines de noviembre y crece activamente hasta el mes de enero. Su primera floración se inicia y completa tempranamente, en enero. La segunda se produce en febrero. En marzo, los vástagos aéreos de esta especie entran en la etapa de senescencia, junto con el arroz.

Polygonum persicaria: El "duraznillo" emergió del agua a comienzos de diciembre. Estuvo presente durante todo el cultivo y desapareció al secarse los paños. Esta especie presentó dos períodos de floración y fructificación. El primero, que se inicia en diciembre, es muy prolongado. El segundo comienza a fines de enero, junto con el arroz, pero tiene una menor duración. La producción de semillas de esta maleza anual es muy alta.

Typha angustifolia: Las hojas del "vatro" emergen también a comienzos de diciembre y crecen durante todo el cultivo. Sin embargo, en el paño, esta maleza sólo presenta crecimiento vegetativo sin llegar a formar vástagos floríferos, seguramente por el tardío inicio del anegamiento. Además, la formación de culmos floríferos de esta especie de gran tamaño requiere de un tiempo más prolongado que lo que dura el cultivo.

Ammannia coccinea: Esta hierba anual emerge en el mes de diciembre y se desarrolla vegetativamente durante todo el periodo de cultivo. Su floración y fructificación se presentan en enero, antes que el arroz.

Cyperus haspan: Esta maleza tiene una presencia muy breve en el cultivo, pues emerge en diciembre y entra en senescencia a fines de enero. La floración se inicia los primeros días de enero y la fructificación se completa a mediados del mismo mes. La producción de semillas de esta planta anual es alta y al presentarse siempre en los arrozales, significa que su formación es altamente eficiente, entregando diásporas viables que permanecen en rezago, en el suelo del arrozal, durante todo el periodo invernal.

DISCUSION

De la exposición anterior se desprende que todas las malezas investigadas, con la única excepción de *Typha angustifolia*, han adaptado su ciclo de vida a la duración del cultivo, formando diásporas antes o simultáneamente con el arroz. Este comportamiento garantiza su permanencia en el terreno, para el próximo cultivo, manteniéndose la infestación. En el suelo denudado después de la cosecha, se encuentran grandes cantidades de diásporas de estas malezas.

Se observó una clara segregación temporal de las fenofases, ya que ninguna especie coincide con otra en las etapas de su desarrollo. Esto permite un aprovechamiento integral de los recursos, al mismo tiempo que mantiene un competidor activo del arroz en todas las fases del cultivo. La importancia económica de este hecho se comprende si se piensa que en esta investigación sólo se consideraron las malezas más comunes, que corresponden a un pequeño porcentaje de las 111 especies prospectadas en los arrozales de Chile Central (17).

Hay varias malezas que brotan o germinan antes que el arroz. Entre ellas se encuentran: *Alisma lanceolatum*, *Echinochloa crusgalli*, *Eleocharis macrostachya*, *Jussiaea repens*, *Lythrum hyssopifolia*, *Myosotis laxa* y *Paspalum distichum*, cuyos brotes se producen a partir de rizomas o semillas que quedan en el suelo. Con posterioridad a la emergencia del arroz, surgen: *Carex canescens*, *Cyperus haspan*, *Polygonum persicaria*, *P. aviculare*, *Ammannia coccinea* y *Typha angustifolia*. Esta última especie no completa su ciclo de vida en el arrozal. Con excepción de *Jussiaea repens*, todas las otras malezas controladas florecen antes que el arroz, incluso algunas fructifican antes de la antesis de la planta cultivada, como por ejemplo: *Echinochloa crusgalli*, *Cyperus haspan*, *Lythrum hyssopifolia*, *Polygonum persicaria*, *P. aviculare*, *Ammannia coccinea* y *Paspalum distichum*. De éstas, *Echinochloa crusgalli*, *Carex canescens*, *Eleocharis macrostachya*, *Polygonum persicaria* y *P. aviculare*, vuelven a florecer junto con el arroz por segunda vez y con nuevos culmos. Esta estrategia permite asegurar la sobrevivencia y aumentar la producción de semillas. *Cyperus haspan* y *Myosotis laxa* presentan ciclos de vida muy reducidos temporalmente, lo que les permite competir con pocas malezas en las primeras etapas del cultivo. Las malezas tienden a presentar entonces sus óptimos de desarrollo en diferentes etapas del cultivo. Junto con el arroz emergen el "hualcacho", la "hualtata" y la "chépica". La mayor cantidad de malezas se presenta en las etapas intermedias del cultivo. Al final del desarrollo del arroz, logran prosperar y emerger las especies rizomatosas de gran tamaño, tales como el "vatro". Las malezas pequeñas compiten con el cultivo en las etapas tempranas de crecimiento y las de mayor tamaño lo hacen al final.

De acuerdo a prospecciones realizadas con anterioridad (17), la mayor cantidad de malezas en los arrozales de Chile Central corresponden a terófitos o plantas anuales. Las hierbas anuales se adaptan muy bien a la estacionalidad del cultivo, ya que su ciclo de vida es corto y sobreviven como semilla en el período de rezago (12). Además, este grupo se caracteriza por una alta producción de semillas, lo cual permite reclutar, en poco tiempo, gran cantidad de individuos. Este

comportamiento corresponde, más o menos, a la estrategia "r" planteada para los animales (20). Ejemplos de eficientes malezas anuales en el arrozal estudiado son *Echinochloa crusgalli*, *Cyperus haspan* y *Ammannia coccinea*. El segundo grupo en importancia corresponde a hierbas perennes, de larga vida y generalmente con órganos de reserva. Estas especies demoran más en colonizar un lugar, pero, a largo plazo, se sobreponen y desplazan las anuales (10). Esto no es posible en el arrozal porque, con la preparación del suelo para la siembra, se retrotrae anualmente, por denudación, la sucesión a su etapa primitiva (15). Algunas de ellas sobreviven en esas condiciones pero no llegan a florecer, como es el caso de *Typha angustifolia*. Estas hierbas perennes se aproximan a los estratagos "k" del reino animal (5) y prosperan sólo donde las condiciones son estables y no hay perturbaciones mecánicas (7, 8). Ejemplo del desarrollo estacional en estos helófitos perennes de gran tamaño, se encuentran en Ramírez y Añazco (14).

La baja del nivel de agua en los paños afecta negativamente el crecimiento y la productividad del cultivo, al mismo tiempo que favorece el incremento de malezas como *Echinochloa crusgalli*, *Paspalum distichum*, *Cyperus haspan* y *Ammannia coccinea*. Por esta razón, en algunos lugares de la zona central de Chile se controla "el hualcacho" subiendo el nivel del agua. Incluso, la germinación de esta especie es afectada por la profundidad en que se encuentran las semillas (19). En consecuencia, el manejo del anegamiento puede reemplazar eficazmente un tratamiento con herbicida para controlar el "hualcacho". Pero, como el agua también es necesaria para la chacarería, este método es de alto costo en Chile central. *Echinochloa crusgalli* florece antes que el arroz, el que se desarrolla en condiciones óptimas después de la primera fructificación de esta maleza. La agresividad del "hualcacho" queda demostrada porque logra dos fructificaciones en un sólo período vegetativo. Después de la cosecha es posible encontrar gran cantidad de diásporas de esta especie en el suelo.

Las malezas y el arroz forman una comunidad biológica en un medio acuático-palustre creado por el hombre. El número de especies de esta comunidad está en relación directa con el grado de perturbación del suelo. San Martín (16) comprobó la presencia de 13 especies de malezas en un paño con tratamiento de cultivo integral y sólo tres en otro, con uno incompleto. Estructuralmente, las malezas y el cultivo se disponen en forma estratificada, logrando un óptimo aprovechamiento del terreno. Sobre pasan al arroz en alturas, especies como *Echinochloa crusgalli* y *Typha*

angustifolia, las otras ocupan posiciones más bajas. Como el "hualcacho" crece más rápido que el arroz,

puede ser controlado cortando los culmos que sobresalen del cultivo antes que fructifique el arroz.

LITERATURA CITADA

1. BORNKAMM, R. 1961 Zur Lichtkonkurrenz von Ackerunkräuter. *Flora* 151(1):126-143.
2. BORNKAMM, R. 1963 Erscheinungen der Konkurrenz zwischen höheren Pflanzen und ihre begriffliche Fassung. *Berichte des geobotanischen Institut ETH Stiftung Rübel, Zürich* 34:83-107.
3. DI CASTRI, F.; HAJEK, E. 1976 Bioclimatología de Chile. Santiago. Universidad Católica de Chile. 128 p.
4. DIERSCHKE, H. 1970. Zur Aufnahme und Darstellung phänologischer Erscheinungen in Pflanzengesellschaften. In *Grundfragen und Methoden in der Pflanzensoziologie*, de R. Tüxen. Rinteln.
5. GRIME, J. 1979. *Plant strategies and vegetation processes*. New York, John Wiley.
6. HAJEK, E.; DI CASTRI, F. 1975. Bioclimatografía de Chile. Santiago. Universidad Católica de Chile. 107 p.
7. HEADY, H. 1956. Changes in a California annual plant community by manipulation of natural mulch. *Ecology* 37:798-812.
8. HEADY, H. 1958. Vegetational changes of the California annual type. *Ecology* 39(3):402-416.
9. HUBER, A. 1978. La productividad potencial de la vegetación natural en Chile. *Agro Sur* 6(2):83-89.
10. KNAPP, R. 1961. Kennzeichnung der sozialen Beziehungen, gegenseitigen Beeinflussung und der Konkurrenzkraft der Pflanzen bei Vegetation-Analysen. *Bericht der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 73(9):418-428.
11. MONTALDO, P.; PAREDES, F. 1981. Observaciones fenológicas en praderas antropogénicas en dos localidades de la provincia de Valdivia, Chile. *Agro Sur* 9(1):43-54.
12. NUMATA, M. 1976. A consideration of the life-forms of plants and their evolutionary aspect. *Physiology and Ecology Japan* 17(1/2):557-564.
13. PINOCHET, F. 1975. Suelos de Talca. In *Análisis geográfico de los recursos físicos y humanos de la VII Región, Chile, Talca*.
14. RAMIREZ, C.; AÑAZCO, N. 1982. Variaciones estacionales en el desarrollo de *Scirpus californicus*, *Typha angustifolia* y *Phragmites communis* en pantanos valdivianos, Chile. *Agro Sur* 10(2):111-123.
15. RAMIREZ, C.; RIVEROS, M. 1975. Contenido de semillas en el suelo y regeneración de la cubierta vegetal en una pradera de la provincia de Valdivia, Chile. *Phyton* 33(1):81-96.
16. SAN MARTIN, J. 1981. Influencias recíprocas entre malezas y arroz en cultivos de Chile Central. Tesis. Valdivia, Escuela de Graduados. Universidad Austral de Chile 181 p.
17. SAN MARTIN, J.; RAMIREZ, C. 1983. Flora de malezas en arrozales de Chile Central. *Ciencia e Investigación Agraria* 10(3):207-222.
18. SIMS, G.; ALVARADO, R. 1972. Manual del arroz. Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), División Técnica, Instituto Agropecuario Chile. Boletín Técnico no. 54.
19. SMITH, J.; FOX, W. 1973. Soil water and growth of rice and weeds. *Weed Science* 21(1):61-63.
20. STEARNS, S. 1976. Life-history tactics: A review of the ideas. *Quarterly Review of Biology* 51:3-47.

Observações na Microsporogênese de *Coffea eugenioides* Moore com Número de Cromossomos Duplicado¹

Y.M.S. Boaventura*, N.D. da Cruz*, C.R.B. Gomes**

ABSTRACT

Although colchicine-induced polyploid plants of *Coffea eugenioides* were obtained by Mendes in 1939, no previous reports were found describing the meiotic behaviour of these plants. The present paper is a cytological study of *C. eugenioides* + Co with $2n = 44$ chromosomes, undertaken primarily due to the importance of this species as a putative ancestral of *Coffea arabica*. Floral buds were fixed in Carnoy and slides were prepared according to the usual aceto-carmine procedure. Observations of 477 pollen mother cells showed a stable number of 44 chromosomes in every microsporogenesis studied. In diakinesis, the chromosomes were found as univalents, bivalents, trivalents and quadrivalents. In this phase, a constant group of 6 to 8 bivalents near the nucleolus was observed. In the 133 cells in metaphase I, only 3.76% were 22II. The average chromosomal conjugations were 2.36I, 14.27II, 0.36III and 3.33IV. Irregular chromosomal distribution at the poles, in the form of 21-23 and 20-24, were found in 39.58% of the observed cells. In anaphase II, only 38.18% of the cells showed a normal distribution of 22 chromosomes for each microspore. In the remaining cells (61.82%), six different types of chromatic distribution were found. After cytokinesis, triads (2.4%), tetrads (88.4%) and polyads (9.2%) were observed. Pollen viability was 80%. Observations made on transversal slices of fruits showed 69.0% ovule fertilization. The remaining 31.0% had only perisperm (abortive). The observed fruits were 39.5% "normal berry" type and 29.5% "peaberry" type.

INTRODUÇÃO

Com relação ao número de cromossomos, o gênero *Coffea* L. compreende dois grupos, um tetraplóide com $2n = 44$ que caracteriza a espécie *C. arabica* e outro diplóide com $2n = 22$ determinado nas outras espécies (20). Pela incompatibilidade do número de cromossomos em cruzamentos dessas espécies diplóides com *C. arabica* em um programa de melhoramento, houve necessidade de se duplicar artificialmente o número de cromossomos daquelas. Com esse objetivo, A.J.T. Mendes já em 1939, conseguiu obter

RESUMO

Usando colchicina, foram obtidas plantas de *Coffea* com $2n = 44$ cromossomos de algumas espécies diplóides introduzidas. O estudo do comportamento meiótico de *C. eugenioides* + Co com $2n = 44$ cromossomos foi realizado primeiramente por tratar-se de uma espécie considerada um possível ancestral de *C. arabica*. Botões florais foram fixados em Carnoy e as lâminas preparadas segundo a técnica usual do carmin acético. Em 477 células mães de pólen analisadas foi possível constatar um número estável de 44 cromossomos, em todas as fases da microsporogênese estudadas. Em fase de diacinese os cromossomos se apresentaram na forma de mono-, bi-, tri- e tetraivalentes. Nesta fase foi observado, junto ao nucléolo, um aglomerado constante de 6 a 8 bivalentes. Nas 133 células em metáfase I apenas 3.76% das células apresentaram 22II. A fórmula média do pareamento determinado foi 2,36I; 14,27II; 0,36III e 3,33IV. As irregularidades anafásicas se resumem praticamente na distribuição irregular dos cromossomos para os polos, na forma de 21-23 e 20-24, porém 60,42% das células apresentaram uma disjunção normal de 22-22 cromossomos. Em anáfase II foram observados seis tipos diferentes de distribuição cromática; em 38,18% das células foi encontrada uma distribuição normal de 22 cromossomos para cada micrósporo. Após a citocinese foram observadas tríades (2,4%), tétrades (88,4%) e políades (9,2%). A viabilidade dos grãos de pólen foi de 80%. Observações em cortes transversais de frutos mostraram boa porcentagem de fertilização dos óvulos (69,0%), sendo 39,5% dos frutos do tipo "chato" e 29,5% do tipo "moca". Nos frutos, 31,0% formaram só perisperma, portanto, abortivos.

plantas de algumas espécies de *Coffea* com $2n = 44$ cromossomos

O estudo da microsporogênese das espécies que foram duplicadas é de grande interesse para o melhoramento, principalmente as espécies *C. liberica*, *C. canephora* e *C. eugenioides* que são consideradas, por suas características morfológicas e genéticas, as espécies mais prováveis de participação na origem de *Coffea arabica*, se a origem desta última se deu realmente por alopoliploidia.

A análise do comportamento meiótico desses autotetraplóides só agora está sendo realizada e a primeira a ser concluída é (*C. eugenioides* + Co = *C. eugenioides* ($2n = 22$) com número de cromossomos duplicado pela colchicina ($2n = 44$)).

¹ Recebido para publicação em setembro 1986
O primeiro autor recebe Bolsa de Pesquisa do CNPq

* Seção de Citologia, Instituto Agrônomo, IAC, C.P. 28, Campinas, SP, Brasil

** Estagiária - estudante, UNESP, São José do Rio Preto, SP, Brasil.

A espécie *C. eugenoides* foi trazida para a coleção de espécies da Seção de Genética do Instituto Agrônomo em 1953. O material foi introduzido através do D.A. dos EE UU. Em 1957, ramos ponteiros e laterais de diversos exemplares foram tratados com colquicina com a finalidade de duplicação de cromossomos. O método utilizado foi aquele desenvolvido e descrito por Mendes (10) para café. Em seguida o material foi enxertado, num total de 137 enxertos, dos quais 84 se desenvolveram. Apenas um deles foi conservado por apresentar algumas características de duplicação.

MATERIAL E METODOS

A planta duplicada em estudo, bem como a espécie diplóide original encontram-se no ripado da Seção de Genética no Centro Experimental de Campinas, fazendo parte da coleção de espécies de *Coffea* do Instituto Agrônomo, as quais receberam os números 1140-16 + Co e 1140-24.

Botões florais foram coletados nos meses de junho a setembro e fixados diretamente no campo, em solução de Carnoy 3:1 (mistura de álcool etílico absoluto e ácido acético glacial). O fixador foi renovado três vezes em um período de 48 horas. O material foi resfriado e guardado em congelador à temperatura de -20° no próprio fixador.

O método da preparação das lâminas foi o usual utilizado na Seção de Citologia, isto é, lâminas semi-permanentes por esmagamento de anteras com carmim acético a 1.2% (7). Essas preparações foram guardadas em geladeira, apresentando uma duração aproximada de 15 dias.

Cinco botões coletados ao acaso foram usados na análise de tétrades de micrósporos. Todas as cinco anteras foram utilizadas para cada preparação (coloração com carmim acético) e de cada preparação foram analisadas 100 células mães de pólen, totalizando 500 contagens. As observações sobre a viabilidade do pólen, através de contagens de grãos com protoplasma, foram feitas também em cinco preparações com carmim acético, cada uma representando uma flor. Foi utilizado sempre pólen maduro, coletado no dia da antese, de flores previamente protegidas.

As células mães de pólen, nos diferentes estádios da meiose, foram observadas, interpretadas e fotografadas.

A análise das sementes formadas por fruto e os tipos de frutos formados, se "chato" ou "moca" foram feitas por meio de cortes transversais em 200

frutos coletados ao acaso e no estágio de fruto maduro, tanto na planta de *C. eugenoides* ($2n$) como em *C. eugenoides* + Co ($4n$).

RESULTADOS

As observações citológicas em células mães de pólen de *Coffea eugenoides* duplicado revelaram, em 477 células, um número estável de 44 cromossomos, em todas as fases da microsporogênese estudadas que permitiram uma contagem.

As fases iniciais do processo meiótico são normalmente difíceis de interpretar nas diferentes espécies.

Em fase de diacinese, em 60 células, os cromossomos apresentaram-se na forma de mono-, bi-, tri e tetraivalentes. Foi observado um aglomerado constante de 6 a 8 pares de cromossomos na região do nucléolo.

Em 133 células analisadas em metáfase I, apenas 5 células (3.76%) apresentaram 22II. O modo de pareamento cromossômico nesta fase pode ser apreciado no Quadro 1 de distribuição de mono-, bi-, tri- e tetraivalentes. O número de monovalentes variou de 0 a 6 por célula; a frequência de bivalentes de 4 a 22; os trivalentes presentes só foram vistos em algumas poucas células, de 1 a 2; e os tetraivalentes apresentaram uma variação de 1 a 9. Na Fig. 1 pode ser observada a célula que apresentou 6 bivalentes e 8 tetraivalentes. A fórmula média do pareamento determinada foi 2.36I; 14.27II; 0.36III e 3.33IV.

Em anáfase I 60.42% das células analisadas apresentaram uma disjunção normal para os polos de 22-22 cromossomos. As irregularidades anafásicas se resumem praticamente na distribuição irregular dos cromossomos para os polos de 20-24 (Fig. 2) e 21-23 (Quadro 2). Cromossomos retardatários foram vistos muito raramente (Fig. 3). Pontes cromatínicas não foram notadas em AI ou AII.

No Quadro 3 estão demonstrados os seis tipos de distribuição cromatídica observados em anáfase II que variou de 20 a 24 cromossomos por polo. Apenas 38.18% das células em anáfase II analisadas apresentaram uma distribuição normal de 22 cromossomos para cada um dos quatro polos (Figura 4).

Após a ocorrência da citocinese foram observadas tríades (2.4%), tétrades (88.4%) (Fig. 5), poliades de micrósporos (9.2%) e a ocorrência de micrócitos (Quadro 4). A viabilidade dos grãos de pólen encontrada foi de 80% (Fig. 6).

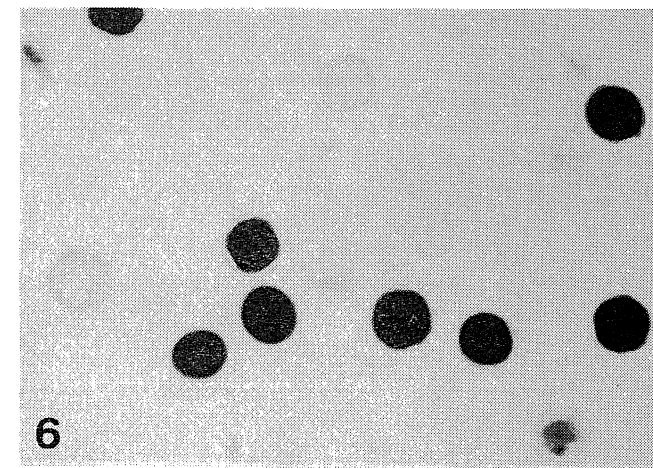
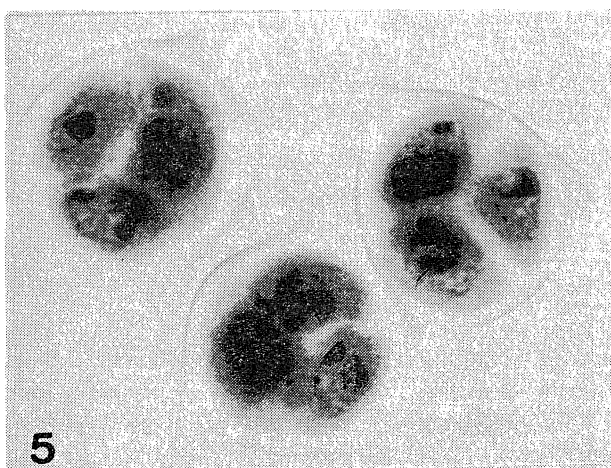
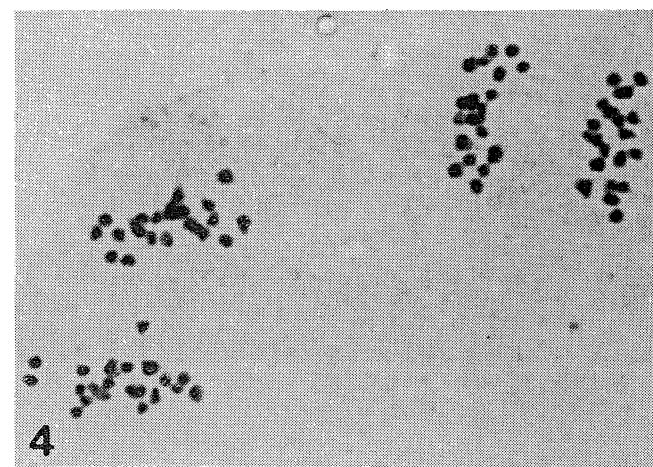
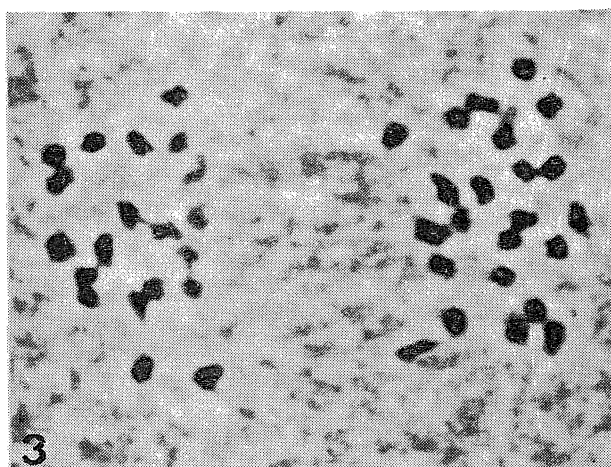
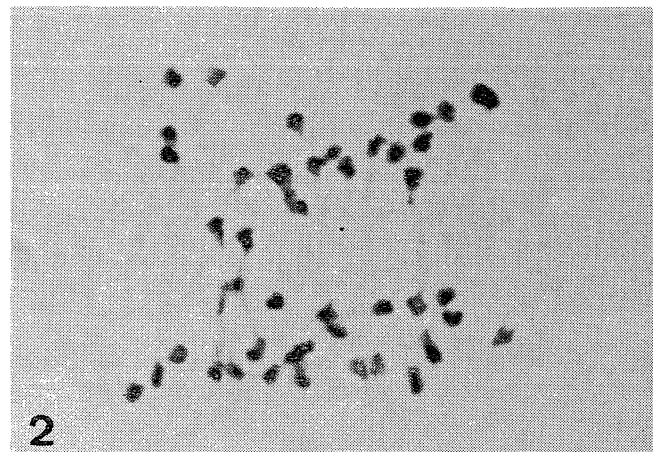
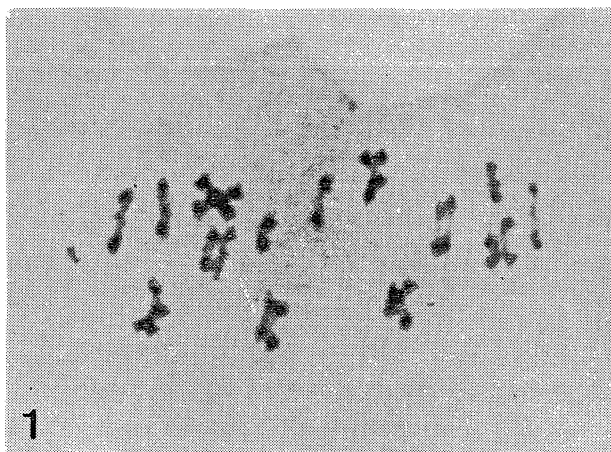


Fig. 1 a 6. Microsporogênese em *C. eugenoides* + Co. Fig. 1. Metáfase I com 6II e 8IV. X 1536. Fig. 2. Anáfase I com disjunção 20-24 cromossomos. X 1920. Fig. 3. Anáfase I, alguns bivalentes atrasados na separação. X 1536. Fig. 4. Anáfase II com distribuição normal de 22 cromossomos. X 1200. Fig. 5. Tétrades normais. X 600. Fig. 6. Grãos de pólen viáveis e inviáveis. X 480.

Observações em cortes transversais medianos de frutos em *Coffea eugenioides* + Co, mostraram uma alta porcentagem de fertilização dos óvulos (69.0%), sendo 39.5% do tipo "chato" (desenvolvimento normal de duas lojas com formação de uma semente em cada uma delas) e 29.5% do tipo "moca" (desenvolvimento de apenas uma loja com a formação de uma única semente). No frutos do tipo "chato", observou-se tanto a formação de duas sementes, como

de apenas uma, totalizando respectivamente 15.0% e 24.5%, em relação aos 200 frutos examinados. O restante dos frutos, 31.0%, formaram só perisperma, portanto abortivos. Em relação à *C. eugenioides* diplóide houve uma variação quantitativa nos frutos e no desenvolvimento de sementes por fruto. O Quadro 5 mostra os tipos de frutos encontrados e seus respectivos conteúdos por loja em *C. eugenioides* diplóide e tetraplóide.

Quadro 1. Tipos mais comuns de pareamento cromossômico em 133 microsporócitos de *C. eugenioides* + Co ($2n = 44$) em metáfase I.

Monovalentes I	Bivalentes II	Trivalentes III	Tetравalentes IV	Frequência	%
2	17	—	2	21	15.78
—	16	—	3	11	8.27
4	16	—	2	10	7.52
4	14	—	3	7	5.26
—	18	—	2	7	5.26
2	19	—	1	7	5.26
—	20	—	1	6	4.51
1	14	1	3	6	4.51
2	15	—	3	6	4.51
—	22	—	—	5	3.76
—	12	—	5	5	3.76
4	10	—	5	5	3.76
2	13	—	4	5	3.76
—	14	—	4	5	3.76
3	15	1	2	4	3.01
1	16	1	2	3	2.25
2	11	—	5	2	1.51
—	8	—	7	2	1.51
6	15	—	2	1	0.75
—	4	—	9	1	0.75
4	7	2	5	1	0.75
Outros tipos				13	9.77
Média	2.36	14.27	0.36	3.33	

Quadro 2. Disjunção cromossômica em Anáfase I em *C. eugenioides* + Co.

Distribuição dos Cromossomos	22-22	21-23	20-24	Total
No de células	87	35	22	144
%	60.42	24.31	15.28	—

Quadro 3. Distribuição cromatídica em Anáfase II em *C. eugenoides* + Co.

Distribuição dos Cromossomos	22-22	22-22	22-22	21-23	20-24	21-23	Total
	22-22	21-23	20-24	21-23	20-24	20-24	
No. de células	42	19	18	17	8	6	110
%	38.18	17.27	16.36	15.45	7.27	5.45	—

Quadro 4. Formação de micrósporos em Tétrades, Triádes, Pêntades e micrócitos em *C. eugenoides* + Co.

Tipos de formação	Tétrades	Triádes	Pêntades	Tétrades com micrócitos		Triádes com micrócitos			Total
				1	2	1	2	3	
No. de células	442	12	6	29	8	1	1	1	500
%	88.4	2.4	1.2	5.8	1.6	0.2	0.2	0.2	—

Quadro 5. Tipos de frutos e número de sementes observado em 200 frutos de *C. eugenoides* (2n) e *C. eugenoides* + Co (4n).

Tipo do fruto	Conteúdo das lojas	2n		4n	
		No.	%	No.	%
"moca"	1 endosperma	25	12.5	59	29.5
	1 perisperma	22	11.0	20	10.0
"chato"	2 endospermas	53	26.5	30	15.0
	1 endosp + 1 perisp.	49	24.5	49	24.5
	2 perispermas	50	25.0	42	21.0
	3 perispermas	1	0.5	—	—
No. total de sementes		180	—	168	—

DISCUSSÃO

A planta de *Coffea eugenoides* com número de cromossomos duplicado (n° 1140—16+Co) já havia sido utilizada por Medina (6) para a determinação do número de cromossomos em café. Em contagens realizadas nesse tecido encontrou 53, 64, 66, 67 e 69 cromossomos, concluindo que embora as células do endosperma sejam normalmente inconstantes no número cromossômico (9), o número determinado nesse tecido parecia demonstrar que este indivíduo realmente se apresentava duplicado ($2n = 44$). Concluiu ainda, pelo número de cromossomos do en-

dosperma, que a fertilização dos óvulos correspondente a cada endosperma estudado possivelmente deveria ter ocorrido por gametas com número de cromossomos diferentes de 22, resultantes, portanto, de meiose irregular.

Boaventura *et al.* (2), no trabalho em que correlacionam número de cloroplastos e nível de ploidia em espécies de *Coffea*, verificaram um aumento substancial no número de cloroplastos, em média 65%, nas plantas tetraplóides em relação às diplóides da mesma espécie, sendo que *C. eugenoides* + Co foi a que apresentou o maior aumento, 92.7% em relação à

C. eugenoides diplóide. Com base nesse resultado concluíram, mais uma vez, que realmente a planta devia apresentar 44 cromossomos, o que foi confirmado desta vez no presente trabalho, agora em células esporóginas.

A microsporogênese de *Coffea eugenoides* Moore com 22 cromossomos foi estudada por Medina *et al* (8), na qual foi constatado um processo normal de pareamento e separação dos cromossomos, produzindo no final do processo grãos de pólen com 11 cromossomos e fertilidade alta (95%)

No trabalho desses autores (8), em 65% das células analisadas em diacinese de *C. eugenoides*, foi observado dois bivalentes relacionados ao nucléolo. Monovalentes só raramente foram observados nesta fase e em metáfase I. Em *C. eugenoides* + Co foi observado um aglomerado constante de 6 a 8 pares de cromossomos ligados a um único nucléolo, diferindo desse modo do esperado pela poliploidização, isto é, até 4 bivalentes nucleolares, de acordo com o trabalho de Medina *et al* (8). Os demais se apresentaram na forma de mono-, bi-, tri- e tetraivalentes que se mantiveram até a metáfase I. Pinto-Maglio (14), estudando a morfologia de cromossomos nucleolares em espécies de *Coffea*, em fase de paquíteno, encontrou em *C. eugenoides* diplóide um só bivalente associado ao nucléolo, embora em outras três espécies estudadas tenha encontrado dois pares. Esta variação, segundo a autora, pode ser atribuída a influências tanto do ambiente como genéticas. Nesse último caso essa inconsistência entre espécies poderia estar relacionada à perda do "locus" da principal região organizadora do nucléolo, permitindo que outros "loci" de outros cromossomos formassem nucléolos, que por fusão originariam um nucléolo maior, ficando desse modo, associado a vários cromossomos. É possível que este fenômeno tenha ocorrido em *C. eugenoides* + Co com o aumento do número de "locus" pela poliploidia.

Vishveshwara e Chinnapa (21), analisando as associações cromossômicas em diacinese e metáfase I de uma planta de *C. canephora*, que também teve seu número cromossômico duplicado pela ação da colquicina, encontrou uma média por célula de 1.18I; 7.42II; 1.5III e 5.75IV. A frequência das várias associações mostraram que os bivalentes nessa espécie são consideravelmente em maior número que os tetraivalentes e os mono- e trivalentes são em número bem menor e de médias quase iguais. No nosso caso a média de mono- e bivalentes apresentaram-se em dobro (2.36I e 14.27II) do encontrado por aqueles autores (21), sendo que trivalentes só foram verificados em 14 células das 133 analisadas em metáfase I (Quadro 1), dando uma média de 0.36III por célula e a média

de tetraivalentes por nós encontradas foi de 3.33IV, o que é quase a metade da obtida para *C. canephora* + Co.

O maior número de monovalentes em *C. eugenoides* + Co indica que houve formação de um menor número de quiasmas, o que tem sido verificado para tetraplóides de várias espécies que possuem cromossomos pequenos e com baixa frequência de quiasmas (20).

Existe na literatura uma controvérsia quanto à relação de tamanho dos cromossomos e de formação de tetraivalentes em autopoliplóides.

Riley e Chapman (15) acham que a ocorrência de uma alta frequência de bivalentes nos autopoliplóides de trigo seria mais em decorrência do tamanho dos cromossomos e que os autopoliplóides com cromossomos mais longos seriam mais aptos em formar multivalentes (19). Ao contrário, Morrinson e Rajhathy (12) observaram que o número de associações de multivalentes é mais alto em autotetraplóides de cromossomos pequenos do que naqueles com cromossomos longos. Srivata e Raina (16), estudando um autotetraplóide de *Clitoria ternatea* com $2n = 16$, espécie que é composta por 4 pares homólogos de cromossomos longos e 4 pares curtos, encontrou fundamento para explicar a frequência de multivalentes nos autopoliplóides. Estes autores concluíram que depende mais do tamanho do cromossomo, o qual tem um efeito indireto na formação dos quiasmas que são controlados pelo genótipo.

A que nível a variação do comprimento cromossômico interferiria sobre a frequência de quiasmas em espécies de *Coffea* ainda é desconhecido. Bouharmont (3) concluiu que a morfologia e em grande parte o comprimento dos cromossomos de todas as espécies desse gênero por ele estudadas é muito semelhante. É patente a diferença no pareamento cromossômico nas duas espécies *C. canephora* + Co (21) e *C. eugenoides* + Co. Nas espécies diplóides *C. canephora* e *C. eugenoides*, ambas autoincompatíveis, o número médio de quiasmas formado por célula, é 14.57 e 16.85 respectivamente (8). Essa diferença é pouco significativa, porém maior em *C. eugenoides*, onde seria esperado maior número de agrupamentos cromossômicos no tetraplóide dessa espécie do que em relação à anterior, em decorrência do maior número de quiasmas. No entanto, em *C. eugenoides* + Co foi determinado maior número de monovalentes e menor de tetraivalentes e trivalentes do que em *C. canephora* + Co (21). Portanto, em café pelo menos, parece que o pareamento está mais condicionado por fatores genéticos.

As irregularidades anafásicas em *C. eugenoides* + Co se resumem praticamente na distribuição irregular dos cromossomos para os polos, o que é esperado, pois a formação de multivalentes nas duas fases anteriores promove, durante a anáfase I, uma disjunção desigual de cromossomos para os dois polos, refletindo na distribuição das cromátides em anáfase II. Nesta espécie, 38.18% das células analisadas apresentaram a separação normal de 22 cromossomos para cada um dos polos. Resultado semelhante também foi verificado por Armstrong e Robertson (1) em autotetraplóides de *Trifolium hybridum* L.

Em *C. eugenoides* diplóide (8) foi encontrado 95% de tétrades normais e de pólen viável, baixando esta taxa para 88.4% e 80% em *C. eugenoides* duplicado respectivamente, o que não é normalmente esperado em uma planta que teve o número cromossômico duplicado. A fertilidade do pólen é muito reduzida em autotetraplóides quando comparada à espécie diplóide original (4).

Anormalidades meióticas que promovem uma separação irregular e uma distribuição desigual de cromossomos para os diferentes polos resultam normalmente na variação do tamanho e na diminuição da fertilidade do pólen, fertilidade essa que se reduz à metade nos tetraplóides induzidos se comparados aos diploides (5). Esse resultado foi verificado para *C. canephora* + Co (dados ainda não publicados), mas não se aplica à *C. eugenoides* + Co, pois, nesta espécie a fertilidade dos grãos de pólen sofreu uma redução muito pequena, e pouco variou o tamanho do pólen.

Stebbins (17, 18) defende a idéia que a esterilidade é consequência direta de fatores controlados geneticamente, mais do que aqueles de natureza desconhecida. Müntzing (13) também acredita que a fertilidade em auto, bem como em aloploiplóides, é influenciada não somente pela presença ou ausência de multivalentes, mas por tipos de controle genético. Os resultados obtidos neste trabalho parecem confirmar a idéia desses dois últimos autores.

A alta fertilidade em *C. eugenoides* + Co pode ser melhor apreciada pela comparação das análises do

número de sementes nas espécies diplóide e tetraplóide (Quadro 5).

Quando é comparada a produção de sementes nas duas plantas de ploidias diferentes (Quadro 5) pode ser observado que a planta duplicada apresenta o dobro de grãos do tipo "moca" e a metade do número de frutos do tipo "chato", tipo normal, que a planta diplóide, mas o número de sementes não difere muito.

Sybenga (20) responsabiliza as irregularidades meióticas como a causa principal de formação de frutos "moca" em café, determinando a diminuição de produção. Podem ocorrer também em café, segundo Sybenga, casos de formação de sementes vazias ou sementes mal desenvolvidas. Neste caso, o autor acredita que houve a fertilização mas o embrião atrofia e o integumento pode se desenvolver apenas o suficiente para que se forme uma película verde, mais espessa, que evita que o endosperma entre em colapso sob a pressão do grão vazio (Ferwerda, 1937a; 1948a, b, apud 20). Pela descrição, essa película parece corresponder ao chamado perisperma de Mendes (11), onde pode-se inferir uma correlação entre o número de frutos só com perisperma ou com endospermas mal formados.

CONCLUSÕES

A planta da espécie *C. eugenoides* realmente teve o número de cromossomos duplicado ($2n = 44$).

Embora no pareamento ocorra formação de polivalentes em frequência de 37.0% em relação aos bivalentes (14.30%), o comportamento meiótico é bastante regular, mais regular que outras espécies diplóides do gênero igualmente duplicadas (dados não publicados), produzindo 80% de grãos de pólen viáveis.

Em café o pareamento parece ser mais controlado geneticamente, desde que em duas espécies diferentes, *C. canephora* + Co (21) e *C. eugenoides* + Co, o comportamento no pareamento é bem distinto, sendo que as duas mesmas espécies diplóides, de acordo com Bouharmont (3), possuem cromossomos de tamanho e morfologia semelhantes.

LITERATURA CITADA

1. ARMSTRONG, J.M.; ROBERTSON, R.W. 1956. Studies of colchicine induced tetraploids of *Trifolium hybridum* L. I. Cross and self-fertility and cytological observations. Canadian Journal of Agricultural Science 36:255-266.
2. BOAVENTURA, Y.M.S.; MEDINA, D.M.; VIEIRA, M.J.F.R.; ARRUDA, H.V. DE. 1981 Número de cloroplastos e nível de ploidia em espécies de *Coffea* L. Revista Brasileira de Botânica 4:15-21.
3. BOUHARMONI, J. 1959. Recherches sur les affinités chromosomiques dans le genre *Coffea* Bruxelles, INEAC. 94 p (Série scientifique no. 77)
4. BURNHAN, C.R. 1962. Discussions in cytogenetics. Minnesota, Burgess.
5. DAS, B.C.; PRASAD, D.N.; SIKDAR, A.K. 1970. Colchicine-induced tetraploids of mulberry. Caryologia 23(3):283-293.
6. MEDINA, D.M. 1965. Novas observações citológicas no endosperma de café. Bragantia 24(29):269-384.
7. MEDINA, D.M.; CONAGIN, C.H.T.M. 1964. Técnica citológica. Instituto Agronômico. 108 p. (Publicação no 2610)
8. MEDINA, D.M.; CONAGIN, C.H.T.M.; CRUZ, N.D.A. 1977. Microsporogenesis in diploid species of *Coffea* L. Caryologia 30(1):13-25
9. MEDINA, D.M.; LOPES, C.R.; CONAGIN, C.H.T.M.; RIJO, L. 1978. Cytological studies in the endosperm and embryo of *Coffea* L. Caryologia 31(4):435-448.
10. MENDES, A.J.T. 1939. Duplicação do número de cromossomos em café, algodão e fumo pela ação da colchicina Instituto Agronômico 21 p. (Boletim Técnico no. 57)
11. MENDES, A.J.T. 1941. Cytological observations in *Coffea*. II. Embryo and endosperm development in *Coffea arabica* L. American Journal of Botany 28(9):784-789
12. MORRISON, J.W.; RAIHATHY, T. 1960. Chromosome behaviour in autotetraploid cereals and grasses. Chromosoma 11:297-309.
13. MUNTZING, A. 1951. Cytogenetic properties and practical values of tetraploid rye. Hereditas 37:18-84.
14. PINTO-MAGLIO, C.A.F. 1983. Morfologia dos cromossomos nucleolares em fase de paquíteno no gênero *Coffea* L. Tese de dissertação para obtenção do título de Mestre. UNICAMP, Instituto de Biologia. 92 p.
15. RILEY, R.; CHAPMAN, V. 1958. Genetic control of the cytologically diploid behaviour of hexaploid wheat. Nature 182:713-715.
16. SRIVASTAV, P.K.; RAINA, S.N. 1982. Cytogenetics of *Clitoria* I. Induced autotetraploidy in *C. ternatea*. Cytologia 47:99-107.
17. STEBBINS, JUNIOR, G.L. 1947. Types of poliploids: Their classification and significance. Advances in Genetics 1:403-430.
18. STEBBINS, JUNIOR, G.L. 1950. Variation and evolution in plants. 1 ed. New York, Columbia University Press.
19. STEBBINS, JUNIOR, G.L. 1977. Chromosomal evolution in higher plants. Tropical Forage Legumes. FAO. London. Edward Arnold.
20. SYBENGA, J. 1960. Genética y citología del café. Turrialba 10(3):83-138.
21. VISHVESHWARA, S.; CHINNAPPA, C.C. 1965. Induced auto-tetraploid in *Coffea canephora* Pierre ex Froehner. Current Science 34(3):90-92.

Nuevas Observaciones sobre la Distribución Espacial de Nematodos Parásitos del Arroz (*Oryza sativa* L.) en Costa Rica¹

R. López*

ABSTRACT

The vertical and horizontal distribution of plant-parasitic nematodes was studied in four upland rice fields located in different rice producing zones of Costa Rica, namely the Atlantic, the Central Pacific and the Southeastern Pacific. In each field, compound soil samples were taken from the surface down to the 60 cm soil depth at 15 cm intervals, in each of nine one-square meter adjacent plots. In practically all cases the variance was greater than the mean and, therefore, the horizontal distribution was clumped. Vertically and with the exception of *Longidorus* sp. in two fields and *Criconemella palustris* in one, the highest population densities were found in the upper 15 cm soil layer. Required number of samples to be taken to obtain reliable estimates of the mean population density of each plant-parasitic nematode, were determined. Species present in the Atlantic zone were *C. palustris*, *Longidorus* sp., *Basiria* sp. and *Helicotylenchus* sp. In the Central Pacific zone *Tylenchorhynchus annulatus*, *C. palustris*, *Pratylenchus zaei* and *Basiria* sp. were found, whereas *T. annulatus*, *C. palustris*, *C. ornata*, *Tylenchus* sp. and *Helicotylenchus* sp. were the species present in the Southeastern Pacific zone.

INTRODUCCION

La información acerca del tipo o patrón de distribución de una población de nematodos fitoparásitos en el suelo puede servir, tanto para dirigir la aplicación de ciertas tácticas de combate cultural (7), como para mejorar la precisión y confiabilidad de los muestreos destinados a obtener un estimado de su densidad poblacional promedio (9). Desde el punto de vista matemático, se definen los tipos de distribución de los organismos en el espacio según sea el valor del cociente varianza/promedio; si este cociente tiene un valor de 1, la distribución de los organismos es al azar mientras que, si su valor es menor de uno, la distribución es regular o unifor-

COMPENDIO

Se estudió la distribución espacial de nematodos parásitos del arroz en cuatro plantíos localizados en diferentes zonas productoras de Costa Rica. En cada plantío se tomaron muestras compuestas de suelo, desde la superficie hasta los 60 cm de profundidad, a intervalos de 15 cm, en cada una de nueve parcelas de 1 m², colocadas en tres hileras de tres parcelas adyacentes entre sí. En prácticamente todos los casos, la varianza fue mayor que el promedio por lo que la distribución horizontal de los nematodos era agregada. Verticalmente y con unas pocas excepciones, las mayores densidades poblacionales se localizaron en los primeros 15 cm de profundidad. Se determinó el número de muestras que es necesario tomar para obtener estimados precisos de la densidad promedio de los nematodos fitoparásitos. Las especies presentes en los plantíos estudiados incluyeron: *Criconemella palustris*; *Longidorus* sp.; *Basiria* sp. y *Helicotylenchus* sp., en la zona Atlántica; *Tylenchorhynchus annulatus*; *C. palustris*; *Pratylenchus zaei* y *Basiria* sp., en el Pacífico Central y *T. annulatus*; *C. palustris*; *C. ornata*; *Tylenchus* sp. y *Helicotylenchus* sp., en el Pacífico Sureste.

me; si el valor de este cociente es superior a uno se dice que la distribución es contagiosa o agregada (10).

Una vez que se conoce el tipo de distribución que tiene la población de un organismo es factible desarrollar un plan de muestreo de la misma y cuantificar, por varios medios, su precisión (9). Uno de estos medios es la relación error estándar del promedio/promedio, la cual frecuentemente es expresada como porcentaje; en este último caso se le llama índice de precisión (IP) (1). Se estima que el IP debe ser igual o inferior al 25% para que el estimado de una densidad poblacional sea confiable. El IP se calcula según la fórmula $IP = \text{error estándar del promedio/promedio} \times 100$ (1).

Observaciones preliminares hechas en plantíos de arroz de secano en la zona sureste de Costa Rica (7) demostraron que las mayores densidades poblacionales de nematodos fitoparásitos se localizan en los primeros 15 cm de profundidad y que, horizontalmente, las densidades variaban significativamente en pequeñas parcelas adyacentes entre sí. Con estos

1 Recibido para su publicación el 11 de julio 1987.

El autor agradece la ayuda técnica de: Ing. Luis A. Salazar, Sr. Justo Azofeifa, Sra. Cecilia Jinesta, M.Sc. Freddy Sancho y Sra. Mariel Díaz.

* Laboratorio de Nematología, Escuela de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

hechos en mente se planteó la presente investigación, la cual tuvo como objetivos determinar los patrones de distribución horizontal y vertical de nematodos parásitos del arroz en varias zonas productoras de Costa Rica y hacer cálculos preliminares tendientes a definir el número de muestras a tomar, con el fin de obtener estimados confiables y precisos de la densidad promedio de los nematodos parásitos del arroz.

MATERIALES Y METODOS

En el transcurso de 1985 se muestrearon cuatro plantíos de arroz (*Oryza sativa* L.) próximos a ser cosechados. Estos plantíos estaban localizados en Zent y Aguas Claras en la zona Atlántica, El Silencio de Quepos en la zona Pacífico Central y a 4 km al Noroeste de Ciudad Neilly, en el Pacífico Sureste, respectivamente. En Zent y Aguas Claras los suelos eran *Typic Tropaquept*, en El Silencio era *Typic Tropaquept* y a 4 km al Noroeste de Ciudad Neilly era *Tropaquept*, todos del orden de los Vertisoles.

En cada plantío se escogió al azar una pequeña franja de terreno de 3 m de ancho por 3 m de largo y se dividió en nueve parcelas de 1 m², dispuestas en tres hileras adyacentes, cada una de las cuales tenía tres parcelas (Fig. 1). En cada parcela se tomó una muestra compuesta de suelo, proveniente de tres puntos localizados en los vértices de un triángulo equilátero imaginario, colocado en el centro de cada una; en cada punto se tomó suelo con un barreno de 2.2 cm de diámetro interno desde la superficie hasta los 60 cm de profundidad, a intervalos de 15 cm. Las muestras fueron recogidas en bolsas de polietileno, identificadas y transportadas al laboratorio donde fueron homogeneizadas y cuarteadas hasta obtener submuestras de 100 ml; éstas fueron procesadas por el método de tamizado y centrifugación en solución azucarada (6); el suelo fue lavado dos veces con agua, utilizando 40 seg de suspensión previo a su paso a través de un juego de tres cribas superpuestas de 100, 325 y 325 mallas; la suspensión recogida fue centrifugada primero en agua y luego en una solución azucarada de 1.18 de gravedad específica durante cuatro min. Los nematodos recuperados fueron identificados y

Cuadro 1. Valores del cociente entre la varianza y la densidad promedio de varios nematodos fitoparásitos en relación a la profundidad de muestreo en cuatro localidades de Costa Rica.

Nematodo	Profundidad (cm) de muestreo			
	0-15	16-30	31-45	46-60
Localidad				
Zent				
<i>Basiria</i> sp.	36.3	1.9	3.6	3.7
<i>Longidorus</i> sp.	2.6	7.0	0.8	56.3
<i>C. palustris</i>	70.4	9.2	3.6	6.1
<i>Helicotylenchus</i> sp	6.3	1.1	2.0	0.4
Aguas Claras				
<i>C. palustris</i>	14.2	9.9	5.3	4.6
<i>Longidorus</i> sp	6.8	8.9	9.1	4.1
<i>Basiria</i> sp.	4.3	107.1	4.4	2.3
El Silencio				
<i>T. annulatus</i>	12.4	1.9	2.4	0.9
<i>Basiria</i> sp.	3.8	0.7	4.5	1.8
<i>C. palustris</i>	0.9	3.8	3.0	1.9
<i>P. zaei</i>	2.9	4.2	0.9	1.9
4 km N.O. Ciudad Neilly				
<i>T. annulatus</i>	4.2	4.1	1.5	3.2
<i>Helicotylenchus</i> sp	1.3	1.6	0.2	-
<i>Tylenchus</i> sp.	3.0	1.2	0.2	2.5
<i>C. palustris</i>	2.0	0.4	1.3	1.0

contados bajo un microscopio estereoscópico a 45X; la determinación de la especie, cuando fue posible, fue hecha con la ayuda de un microscopio de luz a 1500X. Una vez obtenidos los datos de las densidades poblacionales se calculó la densidad promedio de cada especie y la varianza respectiva; posteriormente, se determinó el tipo de distribución que tenían los nematodos. Hecho esto, se procedió a calcular el número de muestras que hubiera sido necesario tomar en cada caso para obtener un IP que variara entre el 5 y el 25%, a intervalos de 5%. En vista de los resultados obtenidos, este cálculo fue hecho sólo con los datos del análisis de la densidad poblacional presente en los primeros 15 cm de profundidad. Para la representación de la distribución horizontal de las diversas especies encontradas se escogió en forma arbitraria una escala de incrementos logarítmicos de 0.25.

RESULTADOS

Las especies de nematodos fitoparásitos asociados al arroz en los cuatro plantíos incluyeron a *Cricomebella palustris* (Luc, 1970) Luc y Raski, 1981; *Helicotylenchus* sp.; *Basiria* sp. y *Longidorus* sp., en Zent; *C. palustris*; *Longidorus* sp. y *Basiria* sp., en Aguas Claras; *Tylenchorhynchus annulatus* (Cassidy, 1930) Golden, 1971; *C. palustris*; *Pratylenchus zaeae* Graham, 1951 y *Basiria* sp., en El Silencio; *T. annulatus*; *Helicotylenchus* sp.; *Tylenchus* sp. y una mezcla de 90% de *C. palustris* y 10% de *C. ornata* (Raski, 1958) Luc y Raski, 1981, en el plantío localizado a 4 km al Noroeste de Ciudad Neilly.

La distribución vertical de estas especies en los cuatro plantíos es presentada en la Fig. 2. En general y con unas pocas excepciones, se encontró que las mayores densidades estaban localizadas en los primeros 15 cm de profundidad y que las mismas disminu-

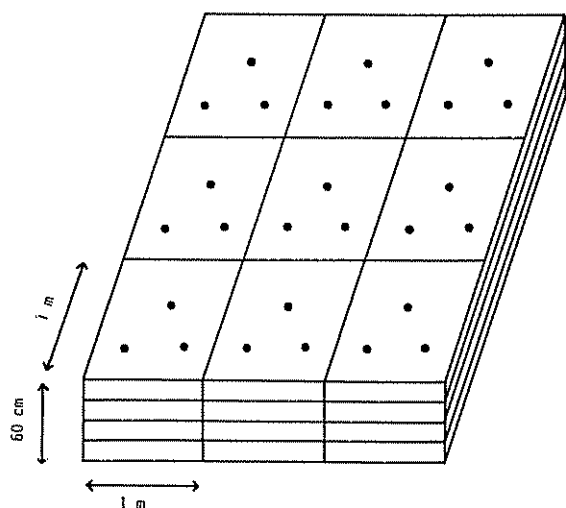


Fig 1. Diagrama que ilustra los puntos en que se muestreó para determinar la distribución espacial de nematodos parásitos del arroz.

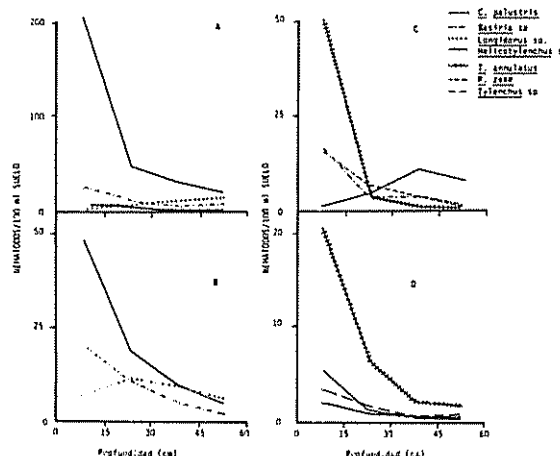


Fig. 2. Distribución vertical de varios nematodos parásitos del arroz en las localidades costarricenses de Zent (A), Aguas Claras (B), El Silencio (C) y a 4 km al N.O. de Ciudad Neilly.

yeron conforme se incrementó la profundidad de muestreo. Las excepciones a esta tendencia general fueron *Longidorus* sp. en Zent y Aguas Claras y *C. palustris* en El Silencio. En el caso de *Longidorus* sp., su mayor densidad fue encontrada entre los 46 y 60 cm de profundidad en Zent y entre los 16 y 30 cm en Aguas Claras, mientras que la mayor densidad de *C. palustris* en El Silencio se localizó entre los 31 y 45 cm de profundidad.

En las Figs. 3 a 6 se presenta la distribución horizontal de los nematodos en cada profundidad en los cuatro plantíos. En la mayoría de los casos se encontró que las densidades variaron en parcelas adyacentes. En el Cuadro 1 se presentan los valores del cociente de la varianza entre el promedio de la densidad de los nematodos. En su gran mayoría (83.3%), los valores de este cociente fueron superiores a 1; en unos pocos casos (13.3%) su valor fue inferior a 1 y en un sólo caso (1.6%) no se pudo calcular este cociente por cuanto prácticamente no se recuperaron especímenes de *Helicotylenchus* sp. entre los 46 y 60 cm de profundidad a 4 km al Noroeste de Ciudad Neilly.

Dado que las mayores densidades se localizaron generalmente en los primeros 15 cm de profundidad, en forma arbitraria se trabajó únicamente con estos valores para calcular la cantidad de muestras a tomar para obtener estimados confiables de su densidad promedio. Estos resultados se presentan en el Cuadro 2. Como era de esperarse, conforme fue reducido el margen de error permisible (menores valores del IP), aumentó considerablemente el número de muestras a tomar y viceversa. Así, por ejemplo, sería necesario tomar 726 muestras para obtener un estimado de la densidad de *Longidorus* sp. en Zent que variara apenas en un 5% con relación al promedio verdadero y únicamente 29 si se permitiera una variación del

25% . En Aguas Claras, para esta misma especie, sería necesario tomar 361 y 14 muestras para obtener es-

timados que variaran en un 5 y un 25% del promedio, respectivamente.

Cuadro 2. Relación entre el número de muestras a tomar en 9 m² y el error relativo expresado como error estándar/promedio x 100 para varios nematodos parásitos del arroz en cuatro localidades de Costa Rica.

Nematodo	Número de muestras a tomar error relativo (%)				
	5	10	15	20	25
Zent					
<i>Basiria</i> sp.	59	15	7	4	2
<i>Longidorus</i> sp.	726	181	81	45	29
<i>C. palustris</i>	137	34	15	9	5
<i>Helicotylenchus</i> sp.	328	82	36	20	13
Aguas Claras					
<i>C. palustris</i>	124	31	14	8	5
<i>Longidorus</i> sp.	361	90	40	23	14
<i>Basiria</i> sp.	91	23	10	6	4
El Silencio					
<i>T. annulatus</i>	99	25	11	6	4
<i>Basiria</i> sp.	93	23	10	6	4
<i>C. palustris</i>	279	70	31	17	11
<i>P. zaei</i>	72	18	8	5	3
4 km N.O. Ciudad Neilly					
<i>T. annulatus</i>	82	20	9	5	3
<i>Helicotylenchus</i> sp.	225	56	25	14	9
<i>Tylenchus</i> sp.	367	92	41	23	15
<i>C. palustris</i>	148	37	16	9	6

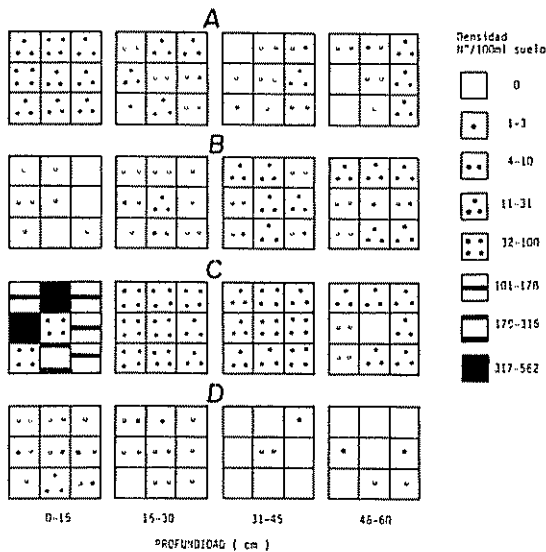


Fig. 3. Distribución horizontal de *Basiria* sp. (A), *Longidorus* sp. (B), *Criconemella palustris* (C) y *Helicotylenchus* sp. (D) en relación a la profundidad de muestreo en un arrozal en Zent.

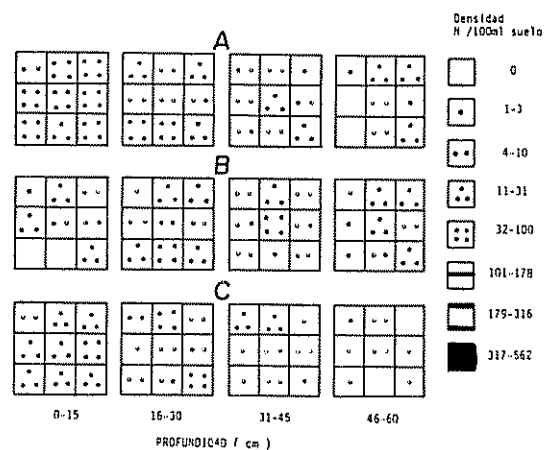


Fig. 4. Distribución horizontal de *Criconemella palustris* (A), *Longidorus* sp. (B) y *Basiria* sp. (C) en relación a la profundidad de muestreo en un arrozal en Aguas Claras.

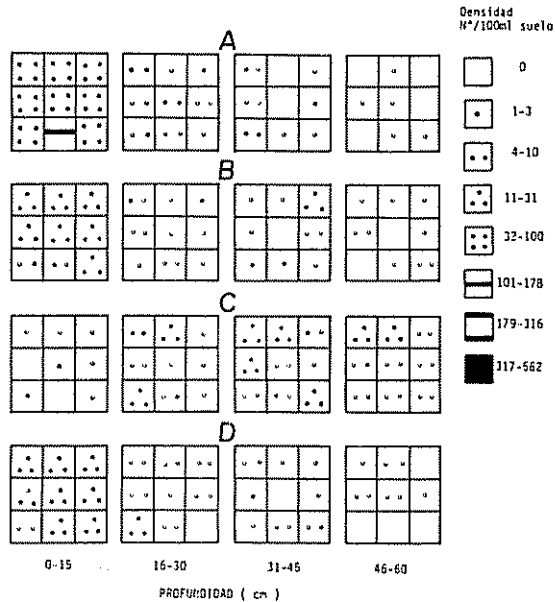


Fig. 5. Distribución horizontal de *Tylenchorhynchus annulatus* (A), *Basiria* sp. (B), *Criconebella palustris* (C) y *Pratylenchus zaei* (D) en relación a la profundidad de muestreo en un arrozal en El Silencio.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en esta investigación coincidieron con hallazgos previos hechos en Costa Rica (7, 8). Así, en el sentido vertical se encontró que, generalmente, las mayores densidades se encontraron en los primeros 15 cm de profundidad. Es probable que, como ha sido señalado previamente (7), esto se debe a que la mayor parte del sistema radical del arroz— del que se alimentan los nematodos— se localiza en esta capa. Es sabido que entre los factores que determinan la distribución vertical de los nematodos está la distribución de las raíces (2, 3). Como excepción a esta tendencia general de la distribución vertical se encontró que las densidades de *C. palustris* en El Silencio y *Longidorus* sp. en Zent y Maryland fueron mayores en capas más profundas del suelo. Es posible que, en estos casos, los nematodos mencionados encontraron condiciones más propicias para su alimentación y reproducción a profundidades mayores de 15 cm. En términos generales, pareciera entonces que, cuando se desee muestrear poblaciones de nematodos parásitos del arroz, lo más adecuado sería tomar únicamente suelo proveniente de los primeros 15 cm de profundidad.

Por otra parte y dado que los valores del cociente varianza/promedio fueron mayores a 1 en la mayoría de los casos, se puede afirmar que la distribución horizontal de estos nematodos era agregada.

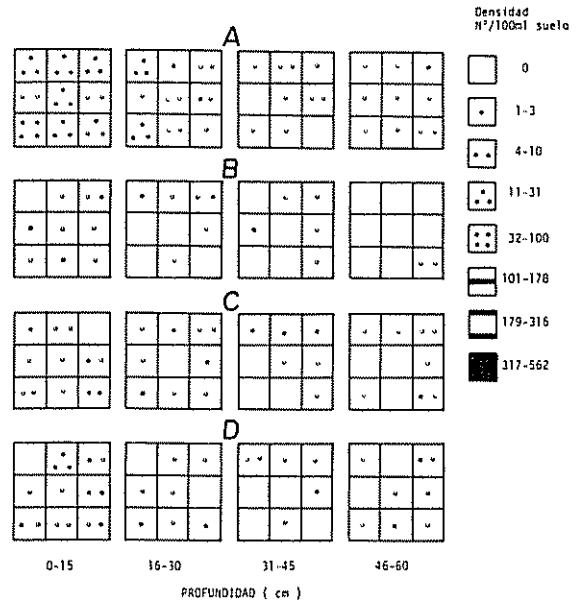


Fig. 6. Distribución horizontal de *Tylenchorhynchus annulatus* (A), *Helicotylenchus* sp. (B), *Tylenchus* sp. (C) y una mezcla de *Criconebella palustris* y *C. ornata* (D) en un arrozal a 4 km al N.O. de Ciudad Neilly.

Otros dos hechos importantes son evidentes después de analizar los resultados obtenidos. En primer lugar, las diversas especies de nematodos alcanzaron, al momento de los muestreos, densidades poblacionales diferentes. Por ejemplo, la densidad de *C. palustris* en Zent fue ostensiblemente mayor que la de las otras especies recuperadas en este plantío, aunque es de presumir que estuvo sometida a las mismas condiciones ambientales que estas últimas, durante su desarrollo y reproducción. El segundo hecho se refiere a que una misma especie no alcanzó las mismas densidades poblacionales en plantíos localizados en diferentes zonas, o incluso, dentro de una misma zona geográfica. Esta situación es ilustrada por la mayor densidad de *T. annulatus* en El Silencio (zona Pacífico Central) que a 4 km al Noroeste de Ciudad Neilly (zona Pacífico Sureste) y por la mayor densidad de *C. palustris* en Zent que en Aguas Claras, localizados estos dos últimos plantíos en la zona Atlántica. Es conveniente recordar que el estado fenológico del arroz era similar, al momento del muestreo, en los cuatro plantíos. Probablemente, factores tales como el régimen de precipitación, algunas características particulares de los suelos en cada sitio, la temperatura ambiental, el cultivar de arroz y la densidad poblacional presiembra de las especies de nematodos, sean los factores responsables de estas diferencias.

Las anteriores consideraciones inducen a pensar en lo señalado previamente por Goodell y Ferris (4),

quienes han sugerido que, en una comunidad de nematodos, no todas las especies tienen el mismo potencial destructivo y que la magnitud del error tolerable puede depender de este potencial. En nuestro caso, la información disponible en cuanto a la patogenicidad de *T. annulatus* en arroz es contradictoria (5), hasta tanto no existan datos sobre el efecto que tienen las demás especies encontradas sobre el desarrollo y rendimiento del arroz. Lo anterior imposibilita, en estos momentos, el asignar categoría alguna a cada especie en cuanto a su potencial destructivo. Es recomendable realizar estudios a la mayor brevedad para definir cuáles de estas especies son capaces de causar pérdidas de importancia económica en este cultivo.

Mc Sorley (9) también ha señalado otros aspectos que deberían ser tomados en cuenta al momento de llevar a cabo un muestreo para determinar densidades poblacionales de nematodos fitoparásitos. Según este autor podría ser aceptable un error relativamente grande si la densidad promedio de una especie fuera baja. Por ejemplo, la densidad de *Basiria* sp. en Zent era de 24 especímenes/100 ml de suelo; un error del 50% podría significar que su densidad real era de sólo 36/100 ml. En contraste con esto, la densidad de *C. palustris* en este mismo plantío era de 206/100 ml por lo que un error del 50% sería considerable, en términos de la densidad poblacional verdadera.

Por otra parte, al tomar muestras de suelo que contienen varias especies de nematodos, se debería seguir un criterio que satisfaga la precisión requerida para determinar la densidad de la especie más difícil de estimar. Esta última observación es explicativa por sí misma.

En cuanto a la cantidad de muestras a tomar para obtener estimados precisos de la densidad de las diversas especies, es obvio que la misma es considerable si se requiere un error bajo, sobre todo si tomamos en cuenta que estas cifras se refieren a una superficie de sólo 9 m² y que cada muestra analizada provino del suelo colectado con tres barrenazos, en una parcela de 1 m². Lo anterior sugiere, como ha sido señalado previamente (9), que es muy probable que un cultivo como el arroz, que es poco rentable y del cual existen grandes áreas bajo cultivos, no toleraría los costos de un muestreo tan intensivo, lo cual requerirá mucho tiempo, esfuerzo y cuidado en la toma de muestras y su procesamiento, por lo que sería imperativo disminuir el nivel de precisión. Pareciera recomendable, eso sí, realizar estudios en que se muestrearan áreas más grandes para determinar si el grado de agregación de los nematodos se mantiene o se reduce; si esto último fuera comprobado, probablemente se reduciría drásticamente la cantidad de muestras necesarias para obtener un estimado preciso de la densidad de los nematodos.

LITERATURA CITADA

1. BARFIELD, C.S. 1981. Understanding and implementing pest management strategies in agricultural systems. Minneapolis, EE.UU., Alpha Editions. 165 p.
2. BARKER, K.R.; CAMPBELL, C.L. 1981. Sampling nematode populations. In Plant parasitic nematodes. Ed. by B.M. Zuckerman; R.A. Rhode. New York, Academic Press. v. 3. p. 451-474.
3. BARKER, K.R.; NUSBAUM, C.J. 1971. Diagnostic and advisory programs. In Plant parasitic nematodes. Ed. by B.M. Zuckerman, W.F. Mai, R.A. Rhode. New York, Academic Press. v. 1. p. 281-301.
4. GOODELL, P.B.; FERRIS, H. 1981. Sample optimization for five plant-parasitic nematodes in an alfalfa field. *Journal of Nematology* 13(3):304-313.
5. HOLLIS, J.P.; KOEBOONRUENG, S. 1984. Nematode parasites of rice. In Plant and insect nematodes. Ed. by R. Nickle. New York. Marcel Dekker. p. 95-146.
6. JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48:692.
7. LOPEZ, R. 1981. Distribución espacial de nematodos del arroz después de la cosecha en el sureste de Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 5(1-2):49-53.
8. LOPEZ, R. 1985. Variación de la densidad poblacional de segundos estadios juveniles de *Meloidogyne salasi* y *M. incognita* en el sureste de Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 9(2):115-119.
9. MCSORLEY, R.; PARRADO, J.L. 1982. Estimating relative error in nematode numbers from single soil samples composed of multiple cores. *Journal of Nematology* 14(4):522-529.
10. SOUTHWOOD, I.R.E. 1978. Ecological methods, with particular reference to the study of insect populations. 2 ed. New York, Chapman and Hall. 524 p.

Efecto del Nivel de Manganeso en la Absorción de Hierro por Diferentes Variedades de Soya¹

E. O. Leidi*, M. Gómez*

ABSTRACT

In the present work, the influence of Mn levels on Fe uptake by soybean cultivars was studied. Fe-efficient and inefficient soybean cultivars were grown in aerated nutrient solutions containing different Mn (0.0, 1.8, 91.0 μM) and Fe (4.5, 17.9, 44.8 μM) concentrations under growth chamber conditions. At the second trifoliolate stage, the plants were sampled and Fe concentration in different plant parts were determined by atomic absorption spectrophotometry. Mn deficiency apparently caused the depression of Fe uptake whereas Mn excess produced a similar effect through its antagonistic relation with Fe. Differences in Fe accumulation by cultivars were observed. However, differential Fe uptake inhibition between cultivars by excess Mn could not be conclusively found.

INTRODUCCION

Entre los metales pesados considerados esenciales para el crecimiento de las plantas, Fe y Mn se encuentran frecuentemente en concentraciones limitantes (por deficiencia o exceso) en suelos de pH elevado o de bajo potencial redox (18).

La toxicidad por Mn es uno de los principales factores limitantes, después del Al, en los suelos ácidos (10). El exceso de Mn produce en las plantas síntomas similares a los de deficiencia de Fe (14). Sin embargo, su exceso no siempre induce deficiencia de Fe, como se ha observado en caña azucarera (12), y en arroz (24).

Brown y Jones (5) indicaron que la tolerancia al exceso de Mn en soya no estaba relacionada con la eficiencia en la absorción de Fe. Por su parte, Lingle *et al.* (17) demostraron que la absorción y el transporte de Fe en soya se incrementaban al aumentar las concentraciones de Mn inferiores a 2 μmoles , pero se

COMPENDIO

En este trabajo se estudió la influencia de los niveles de Mn en la absorción de Fe por cultivares de soya. Se establecieron cultivares de soya Fe eficaces e ineficaces en soluciones nutritivas aireadas que contenían diferentes concentraciones de Mn (0.0, 1.8, 91.0 μM) y de Fe (4.5, 17.9, 44.8 μM) bajo condiciones de cámara de crecimiento. En la segunda fase de trifoliato, las plantas fueron muestreadas y la concentración de Fe, en diferentes partes de la planta, fue determinada por el espectómetro de absorción atómica. Aparentemente, la deficiencia de Mn causó la depresión de la absorción de Fe mientras que el exceso de Mn produjo un efecto similar como consecuencia de su antagonista relación con Fe. Se observaron las diferencias en la acumulación de Fe por dos diferentes cultivares. Sin embargo, no se pudo comprobar en forma concluyente la inhibición en la absorción de Fe entre cultivares debido a exceso de Mn.

disminuían al superarse ese nivel. En tomate, se observó que el Mn producía efectos similares (22). Recientemente, Gettier *et al.* (11) indicaron una mejora en la absorción de Fe a consecuencia de la corrección de la deficiencia de Mn.

El objeto de este trabajo fue el de determinar los efectos de niveles de Mn sobre la absorción de Fe por cultivares de soya con diferente eficiencia en la absorción del metal. Estos resultados permitirían abordar, con mayor base empírica, la solución a las limitantes de producción de esta leguminosa en áreas con disponibilidades subóptimas de Fe y Mn.

MATERIALES Y METODOS

Semillas de soya (*Glycine max* (L.) Merr.) de los cultivares Bragg y Lee (Fe-eficientes), Forrest y T-203 (Fe-ineficientes) (5) y Williams (Fe-eficiencia no indicada) se hicieron germinar a 28°C en placas Petri humedecidas con SO_4Ca 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; (μM): B, 46.2; Cu, 0.8; Zn, 0.8; Mo, 0.05. El pH inicial fue 5.5. La aireación continua se suministró por borboteo. Los tratamientos consistieron en tres niveles de Mn (0.0, 1.8, 91.0 μM)

¹ Recibido para publicación el 25 de junio de 1987.

* Unidad Estructural de Investigación de Fisiología Vegetal. Estación Experimental del Zaidín Apartado 419. 18080-Granada, España.

SO₄ · Mn · H₂O) combinados con tres niveles diferentes de Fe (4.5, 17.9, 44.8 μM) (FeEDDHA).

Al cabo de dos semanas de cultivo en cámara de crecimiento (ciclos de 14 h luz/10 h oscuridad, 30/20°C, 60/80% humedad relativa) (radiación fotosintéticamente activa, 390 μ E·s⁻¹ · m⁻²) las plantas alcanzaron el estado vegetativo V3 (9), momento elegido para el muestreo. Las plantas se fraccionaron en: primer par de hojas simples, primera y segunda trifoliadas, tallos (incluyendo peciolos) y raíces. Las raíces fueron lavadas con tres inmersiones en agua desmineralizada. Todo el material vegetal se colocó en estufa de aire forzado a 70°C durante 48 horas para posterior determinación de pesos secos y análisis químico. El análisis de la concentración de Fe en las distintas fracciones se realizó por espectrofotometría de absorción atómica de las muestras mineralizadas por calcinación y digestión en CIH concentrado (7). Los análisis se efectuaron por triplicado.

RESULTADOS

Los niveles de Mn en solución se relacionaron parabólicamente con el peso seco de las plantas (datos no

presentados), deprimiéndose estos pesos secos bajo condiciones de deficiencia o exceso de Mn.

En los Cuadros 1, 5 se pueden observar las concentraciones y los contenidos de Fe en hojas, tallos y raíces de los distintos cultivares. Se puede advertir que la concentración de Fe en el primer par de hojas simples (Cuadro 1) resultó disminuida por el incremento en el nivel de Mn al existir una baja concentración de Fe en el medio. Con niveles superiores de Fe en solución, el efecto anterior parece no registrarse. En estos casos, la mayor concentración foliar de Fe se obtiene con niveles medios de Mn en solución. Considerando los contenidos de Fe para el mismo par de hojas, el exceso de Mn los deprime, cualquiera que sea el nivel de Fe en el medio o el cultivar considerado. La deficiencia de Mn, también produjo, en general, una reducción del contenido de Fe. En la primera hoja trifoliolada (Cuadro 2), los efectos del Mn no fueron tan generalizados como en el caso anterior. Con bajo nivel de Fe en el medio, el aumento de concentración de Mn produjo una mayor concentración foliar de Fe en los cvs. Forrest y Lee. Sin embargo, con mayor nivel de Fe en solución, el exceso de Mn deprimió la concentración foliar de Fe en todos los

Cuadro 1. Concentración y contenido de Fe en el primer par de hojas simples de variedades de soya cultivadas con diferentes niveles de Fe y Mn.

Tratamientos (ppm)		Concentración de Fe (μ g/g)					
Fe	Mn	Bragg	Lee	Forrest	I-203	Williams	
0.25	0.0	92.1	70.2	72.9	44.1	81.3	
	0.1	57.8	68.9	68.5	28.6	95.3	
	5.0	46.3	57.8	40.8	13.5	56.6	
1.0	0.0	104.1	68.6	92.7	45.4	91.9	
	0.1	89.9	76.3	115.3	51.9	112.2	
	5.0	56.3	64.1	68.7	34.7	105.3	
2.5	0.0	135.8	91.9	85.3	56.9	103.2	
	0.1	167.3	103.3	142.3	78.0	131.1	
	5.0	97.2	69.8	80.2	57.4	93.8	
MDS 0.05		6.2					
		Contenido de Fe (μ g/órgano)					
0.25	0.0	7.53	4.87	4.60	6.50	8.47	
	0.1	7.37	6.80	5.27	4.17	11.27	
	5.0	3.30	4.33	3.00	1.97	6.23	
1.0	0.0	10.87	5.93	6.90	6.10	9.80	
	0.1	10.23	7.90	9.47	7.43	15.03	
	5.0	5.27	4.87	5.03	3.90	11.63	
2.5	0.0	13.37	8.43	7.17	7.43	11.63	
	0.1	19.83	10.03	11.57	11.87	16.93	
	5.0	8.27	5.23	5.93	6.87	9.70	
MDS 0.05		1.42					

Cuadro 2. Concentración y contenido de Fe en la primera hoja trifoliolada de variedades de soya cultivadas con diferentes niveles de Fe y Mn.

Tratamientos (ppm)		Concentración de Fe (μ g/g)				
Fe	Mn	Bragg	Lee	Forrest	T-203	Williams
0.25	0.0	84.9	74.7	95.4	52.8	81.8
	0.1	90.2	77.7	118.3	83.1	116.8
	5.0	78.6	107.3	135.7	63.7	100.3
1.0	0.0	127.4	143.0	97.0	57.5	130.4
	0.1	130.5	108.5	170.9	123.2	139.0
	5.0	100.4	82.8	79.0	59.7	91.4
2.5	0.0	114.4	101.9	102.8	80.3	122.6
	0.1	182.6	132.1	135.6	84.0	134.2
	5.0	99.9	85.5	87.6	62.2	89.3
MDS _{0.05}		25.6				
Contenido de Fe (μ g/órgano)						
0.25	0.0	8.10	5.83	5.63	6.23	7.73
	0.1	12.80	10.47	12.90	9.03	19.83
	5.0	3.67	7.27	4.90	7.87	7.47
1.0	0.0	14.37	10.83	8.90	6.67	14.87
	0.1	16.00	12.97	18.80	21.50	25.90
	5.0	10.73	6.73	7.87	7.00	12.37
2.5	0.0	13.50	8.73	10.37	10.80	14.70
	0.1	23.90	15.57	15.13	15.37	23.87
	5.0	8.60	6.70	8.93	9.37	11.70
MDS _{0.05}		3.43				

cultivares. En relación a los contenidos de Fe, éstos fueron disminuidos en todos los cultivares por condiciones de deficiencia y exceso de Mn. La segunda hoja trifoliolada (Cuadro 3), aún en expansión al momento del muestreo, presentó variaciones importantes en su nivel de Fe por efecto de la concentración de Mn en solución, dependiendo del cultivar o del nivel de Fe en solución considerado. Esta mayor variabilidad de respuesta podría atribuirse a diferencias en su estado de crecimiento entre los distintos cultivares.

Los coeficientes de regresión de las relaciones entre concentración de Mn en solución y contenido de Fe en hojas trifolioladas (valores no presentados) fueron superiores en los cvs. Bragg, Forrest y Williams, e inferior en Lee (las correlaciones no fueron estadísticamente significativas en T-203). Esta circunstancia podría indicar una mayor sensibilidad de los cultivares Bragg, Forrest y Williams a la inhibición de la absorción de Fe por exceso de Mn.

En tallos (Cuadro 4), se observaron mayores contenidos de Fe bajo condiciones de deficiencia o suministro medio de Mn.

En todos los cultivares, el aumento de concentración de Mn en solución produjo un incremento en la concentración y el contenido de Fe en las raíces (Cuadro 5). Los mismos valores también variaron según el nivel de Fe externo. Con alto nivel de Fe en solución, el cv, T-203 fue el que presentó mayor concentración y contenido del elemento en raíces al existir un exceso de Mn. Sin embargo, el cv Lee inmovilizó mayor cantidad de Fe cuando el nivel de este nutriente en el medio era bajo.

DISCUSION

Los resultados expuestos permiten indicar que los niveles de Mn en el medio modificaron la absorción de Fe en los distintos cultivares estudiados, en contraste con lo informado por Heenan y Campbell (13), quienes señalaron la independencia de la absorción de Fe de los niveles de Mn en solución de soya cv Bragg.

En nuestras condiciones experimentales, se pudo observar un aumento en la concentración de Fe con niveles deficientes de Mn en solución, fenómeno tam-

bién registrado en un cultivar de soya (19) y en *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (20). Considerando la disminución del crecimiento por el nivel limitante de Mn y la depresión en los contenidos foliares de Fe, el aumento de nivel citado debe corresponder a un "efecto de concentración" (15) y no a una mejora en la absorción de Fe. El incremento de absorción de Fe se produciría con el nivel medio de Mn con el cual, se presentaron, en general, las mayores acumulaciones del nutrimento.

Estudios de absorción de ^{59}Fe con soya cv Hawkeye (17), demostraron una mejora en la absorción al incrementarse el nivel de Mn hasta una concentración de $2 \times 10^{-6}\text{M}$.

La acumulación de Fe en tallos bajo condiciones de deficiencia de Mn coincide con la disminución del contenido foliar de Fe, circunstancia que podría indicar problemas de transporte del Fe absorbido hasta las hojas.

El exceso de Mn en solución antagonizó la absorción de Fe en los distintos cultivares, produciendo disminución en la concentración y contenido foliar

de Fe. Estos resultados coinciden con los de Lingle *et al.* (17), quienes señalaron la depresión en la absorción de ^{59}Fe en soya a partir de concentraciones de Mn en el medio de igual molaridad al Fe en solución. Este fenómeno también fue detectado en otras especies como tomate (22) y cebada. La disminución en la absorción de Fe por altos niveles de Mn no fue, sin embargo, la verdadera causa de las clorosis férrica presentada por los cultivares en la primera hoja trifoliolada al crecer con tratamiento de bajo Fe ($4.5 \mu\text{M}$) y alto Mn ($91.0 \mu\text{M}$), como podemos comprobar por los valores de concentración de Fe (Cuadro 2), que resultaron superiores al nivel considerando deficiente ($30 \mu\text{g/g}$). Según Clark (8), el Mn y otros nutrimentos (P, Ca, Cu, Mo, Al, etc.) pueden inmovilizar el Fe de los tejidos, inactivándolo para los procesos bioquímicos que le requieren como sustrato y restando significación a los valores de concentración total del elemento.

Considerando como medida de efectividad de la absorción de Fe los niveles de contenido registrados en hojas y tallos, se pueden señalar a los cvs Bragg y Williams como los más eficientes. En cuanto a los

Cuadro 3. Concentración y contenido de Fe en la segunda hoja trifoliolada de variedades de soya cultivadas con diferentes niveles de Fe y Mn.

Tratamientos (ppm)		Concentración de Fe ($\mu\text{g/g}$)				
Fe	Mn	Bragg	Lee	Forrest	T-203	Williams
0.25	0.0	94.9	68.1	57.5	22.3	34.4
	0.1	78.9	59.3	77.9	40.9	80.6
	5.0	43.2	54.7	56.2	30.9	51.7
1.0	0.0	78.1	82.2	58.5	12.2	62.7
	0.1	87.3	65.9	94.0	68.5	77.8
	5.0	73.8	64.8	54.5	26.6	55.6
2.5	0.0	83.9	68.1	92.1	60.9	75.3
	0.1	107.7	74.6	84.2	64.6	73.8
	5.0	73.9	65.9	91.6	52.9	64.8
MDS _{0.05}		5.8				
Contenido de Fe ($\mu\text{g/órgano}$)						
0.25	0.0	6.97	5.00	2.47	0.83	2.43
	0.1	5.93	4.73	5.93	1.23	9.27
	5.0	1.60	3.63	1.73	1.37	1.70
1.0	0.0	6.37	4.80	4.07	0.50	5.43
	0.1	6.93	5.63	7.20	8.80	9.17
	5.0	4.77	4.23	4.13	1.87	6.50
2.5	0.0	6.73	4.77	6.80	5.13	5.47
	0.1	8.80	6.73	5.87	8.50	8.37
	5.0	4.87	4.17	6.60	5.07	5.70
MDS _{0.05}		1.10				

Cuadro 4. Concentración y contenido de Fe en tallos de variedades de soya cultivadas con diferentes niveles de Fe y Mn.

Tratamientos (ppm)		Concentración de Fe (μ g/g)				
Fe	Mn	Bragg	Lee	Forrest	T-203	Williams
0.25	0.0	35.5	23.3	34.6	17.7	33.1
	0.1	24.7	21.3	27.8	18.2	41.7
	5.0	18.5	15.5	36.3	19.1	25.8
1.0	0.0	34.6	37.5	28.7	26.2	43.2
	0.1	46.7	24.0	27.8	42.5	36.2
	5.0	21.7	21.4	21.0	17.8	25.0
2.5	0.0	34.6	25.4	39.3	34.8	62.6
	0.1	45.2	20.8	32.4	32.4	31.2
	5.0	26.3	18.5	20.4	17.8	23.7
MDS _{0.05}		5.2				
Contenido de Fe (μ g/órgano)						
0.25	0.0	7.43	5.10	3.63	2.53	5.13
	0.1	4.27	3.93	4.33	1.97	9.40
	5.0	2.37	2.93	3.03	2.37	3.20
1.0	0.0	9.87	9.33	4.67	3.60	9.57
	0.1	7.53	4.77	4.50	8.00	8.47
	5.0	4.07	3.73	3.60	2.53	6.27
2.5	0.0	7.60	5.20	6.83	6.63	10.63
	0.1	8.13	4.07	4.77	5.97	6.27
	5.0	4.27	3.43	3.27	2.80	4.63
MDS _{0.05}		1.29				

Cuadro 5. Concentración y contenido de Fe en raíces de variedades de soya cultivadas con diferentes niveles de Fe y Mn.

Tratamientos (ppm)		Concentración de Fe (μ g/g)				
Fe	Mn	Bragg	Lee	Forrest	T-203	Williams
0.25	0.0	52.6	52.3	64.4	48.5	50.1
	0.1	65.7	70.3	81.0	57.5	79.9
	5.0	163.7	179.7	126.7	72.3	108.1
1.0	0.0	91.8	91.5	106.8	101.8	82.6
	0.1	122.9	98.8	182.2	93.4	152.6
	5.0	192.0	161.6	220.2	148.7	183.0
2.5	0.0	137.1	182.3	156.1	153.7	153.1
	0.1	269.9	207.6	187.1	135.0	171.0
	5.0	270.0	287.8	298.7	314.9	235.7
MDS _{0.05}		9.3				
Contenido de Fe (μ g/órgano)						
0.25	0.0	5.50	4.97	5.10	7.93	6.03
	0.1	7.87	8.20	9.77	9.57	13.50
	5.0	12.67	16.63	9.70	13.13	12.40
1.0	0.0	11.67	8.50	10.57	17.30	11.97
	0.1	14.00	11.07	19.03	17.60	26.43
	5.0	22.37	13.87	24.63	23.83	31.87
2.5	0.0	17.93	19.70	16.93	22.63	20.60
	0.1	32.30	24.80	20.00	25.77	25.87
	5.0	23.83	27.40	27.23	47.57	33.30
MDS _{0.05}		2.26				

valores de concentración, el cv T-203 presentó las concentraciones más bajas, mientras que los cvs Lee y Forrest alcanzaron concentraciones de magnitud similar a Bragg y Williams. El cv Forrest, caracterizado como Fe-ineficiente (6), presentó una eficiencia similar a la de los cvs Fe-eficientes. Esta diferencia se produciría porque la capacidad de respuesta a la deficiencia de Fe en solución nutritiva no se correlaciona cuantitativamente con la eficiencia sobre suelos calcáreos (23), sustrato éste sobre el que se determinó la eficiencia del cv Forrest (6).

Estudios de distribución de Fe demuestran que las raíces pueden contener de 5 a 20 veces más Fe que las hojas (8). El nutrimento estaría formando parte de la ferritina en las células de la raíz (3), o bien, adsorbido físicamente y/o precipitado (como hidróxido y fosfato) en el apoplasto (1, 2, 16). Estos procesos pueden explicar el aumento de contenido de Fe en las raíces por el incremento del nutrimento en el

medio externo. Otro fenómeno detectado, como fue el aumento en el contenido de Fe con independencia del nivel externo del mismo, por las condiciones de exceso de Mn, también señalado por otros autores (13) correspondería a causas más complejas. La reducción de los iones Fe^{3+} es un proceso que precede a la absorción (4) y resulta inhibido por el Mn^{2+} en exceso (21). Independientemente a esta inhibición, la competencia entre los iones Fe^{2+} y Mn^{2+} por los sitios de absorción al aumentarse la concentración de Mn en el medio podría determinar niveles de Fe^{2+} no absorbido que fueran rápidamente inmovilizados por diferentes procesos en el espacio del apoplasto (2), contribuyendo así a los incrementos de Fe radical detectados.

En conclusión, se puede señalar que los niveles de Mn en el medio interfieren en la absorción de Fe por plantas de soya. Por otra parte, las diferencias de Fe-eficiencia entre cultivares no se traducen en modificaciones cualitativas importantes de respuesta.

LITERATURA CITADA

1. BIENFAIT, H.F.; BRIEL, M.L. VAN DEN; MESLAND-MUL, N.I. 1984. Measurement of the extracellular mobilizable iron pool in roots. *J Plant Nutr.* 7:659-666.
2. BIENFAIT, H.F.; BRIEL, W. VAN DEN; MESLAND-MUL, N.T. 1985. Free space iron pools in roots. Generation and mobilization. *Plant Physiology* 78:596-600.
3. BIENFAIT, H.F.; MARK, F. VAN DER. 1983. Phyto-ferritin and its role in iron metabolism. In *Metals and micronutrients: Uptake and utilization by plants*. Ed. by D.A. Robb, W.S. Pierpoint. London. Academic Press. p 111-123.
4. BROWN, J.C. 1978. Mechanism of iron uptake by plants. *Plant Cell Environ.* 1:249-257.
5. BROWN, J.C.; JONES, W.E. 1977a. Manganese and iron toxicities dependent on soybean variety. *Commun. Soil Science and Plant Anal.* 8:1-15.
6. BROWN, J.C.; JONES, W.E. 1977b. Fitting plants nutritionally to soils. I. Soybeans. *Agronomy Journal* 69:399-404.
7. CIAAF. 1973. Méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans le végétal. Détermination des éléments Ca, Mg, Fe, Mn, Zn et Cu par absorption atomique. *Oléagineux* 28:87-92.
8. CLARK, R.B. 1983. Plant genotype differences in the uptake, translocation, accumulation, and use of mineral elements required for plant growth. *Plant Soil* 72:175-196.
9. FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. 1977. Stages of soybean development. *Coop. Ext. Serv. Agric. Home Econom. Exp. St., Iowa State Univ. Sci. Technol.* (Special Report no. 80).
10. FOY, C.D. 1984. Physiological effects of hydrogen, aluminium, and manganese toxicities in acid soil. In *Soil acidity and liming*. Madison, Wisconsin, USA. Agronomy Monograph no. 12. p 57-97.
11. GETTIER, S.W.; MARTENS, D.C.; BRUMBACK JUNIOR, T.B. 1985. Iron, copper, iron and zinc concentrations in soybeans as affected by manganese application. *J. Fert. Issues* 2:130-135.
12. GUPTA, A.P.; RAO, G.S.G. 1977. Physiological studies on manganese nutrition. *Indian Sugar* 27:547-552.
13. HEENAN, D.P.; CAMPBELL, L.C. 1983. Manganese and iron interactions on their uptake and distribution in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Plant Soil* 70:317-326.
14. HORST, W.J.; MARSCHNER, H. 1978. Symptoms of manganese toxicity in *Phaseolus vulgaris* L. *Pflanzenernaehr. Bodenkd.* 141:129-142.
15. JARRELL, W.M.; BEVERLY, R.B. 1981. The dilution effect in plant nutrition studies. *Advances in Agronomy* 34:197-224.
16. LINEHAN, D.J. 1984. Micronutrient cation sorption by roots and uptake by plants. *Journal of Experimental Botany* 35:1 571-1 574.
17. LINGLE, J.C.; TIFFIN, L.O.; BROWN, J.C. 1963. Iron uptake-transport of soybeans as influenced by other cations. *Plant Physiology* 38:71-76.
18. MARSCHNER, H. 1983. General introduction to the mineral nutrition of plants. In *Inorganic Plant*

- Nutrition. Ed. by A.L. Läuchli, R.L. Bielecki
New York. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
p 5-60.
19. MASCARENHAS, H.A.A.; MIRANDA, M.A.C.;
RAMOS, L.C.S.; FURLANI, P.R.; BATALIA,
O.C. 1982 Comportamento de três cultivares de
soja em diversos níveis de manganês em solução nu-
tritiva. *Bragantia* 41:225-230.
20. NOGUEIRA, O.L.; PAIVA, J.B.; CRISOSTOMO, L.A.
1982. Deficiências de micronutrientes essenciais e
toxicidade de alumínio e manganês em feijão-de-cor-
da. II. Desenvolvimento vegetativo e composição
química das plantas. *Pesquisa Agropecuária Brasi-
leira* 17:663-669.
21. OLSEN, R.A.; BROWN, J.C. 1980 Factors related to
iron uptake by dicotyledonous and monocotyle-
donous plants. II. The reduction of Fe^{3+} + as
influenced by roots and inhibitors. *J. Plant Nutr.*,
2:647-660.
22. RIEKELS, J.W.; LINGLE, J.C. 1966. Iron uptake and
translocation by tomato plants as influenced by
root temperature and manganese nutrition. *Plant
Physiology* 42:1 095-1 101
23. TIPTON, C.L.; THOWSEN, J. 1983. Reduction of iron
by soybean roots: correlation with iron efficiency
on calcareous soils. *Iowa State J. Res.* 57:409-422.
24. VORM, P.D.J. VAN DER; DIEST, A. VAN. 1979.
Aspects of the iron and manganese nutrition of rice
plants. 1. Iron and manganese uptake by rice plants
grown under aerobic and anaerobic conditions.
Plant Soil 51:233-246.

Variação Estacional da Concentração do Molibdênio nos Nódulos e Demais Partes da Planta de Feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)¹

J. Jacob-Neto*, R.J. Thomas**, A.A. Franco***

ABSTRACT

The seasonal variation of the molybdenum concentration of nodules, roots and shoots of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) was studied in plants grown in solution culture containing three levels of molybdenum (0.000; 0.007 and 0.070 μ M Mo). Harvests were taken at eight stages of growth to determine nitrogenase activity, nodule number and dry weight, shoot and root dry weight, shoot total N and Mo concentration. The Mo concentration in the nodules was greater than that of shoots and roots when plants were grown at very low levels of Mo, and declined with age in all treatments. Considering the decrease in nodule Mo concentration with age, early to full flowering was the best stage for sampling for Mo deficiency. Of the total Mo absorbed by the plants, 65% and 25% were translocated to the seed from the intermediate (0.007 μ M) and high (0.070 μ M) levels respectively in the external medium. There was a decrease in nitrogenase activity soon after flowering in plants with and without Mo deficiency.

RESUMO

Foi conduzido um experimento em casa de vegetação com feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. 'Carioca' em solução nutritiva, para estudar a variação estacional da concentração de Mo nos nódulos, raízes e parte aérea, com plantas submetidas a 3 níveis de Mo (0.000; 0.007; 0.070 μ M). Avaliou-se em 8 estádios de crescimento, a concentração de Mo, a atividade da nitrogenase, peso e número de nódulos, peso das raízes, peso e nitrogênio total da parte aérea. As concentrações de Mo nos tecidos da planta variaram com o estágio de crescimento, sendo encontradas maiores concentrações nos nódulos que na parte aérea ou raiz quando as plantas foram crescidas com baixa disponibilidade de Mo. Ocorreu uma queda da concentração de Mo nos nódulos até a floração plena, podendo a amostragem nesta época ser indicada para determinação de deficiência de Mo. Do total de Mo absorvido pelas plantas, 65 e 24%, respectivamente, do nível médio e mais alto foram translocados para as sementes.

INTRODUÇÃO

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) pode ser cultivado extensivamente sem a utilização de nitrogênio mineral, apenas utilizando-se inoculantes com estirpes de *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* eficientes (3, 25). Contudo quando cultivado em solos com baixa disponibilidade de nitrogênio a produtividade do feijoeiro fixando nitro-

¹ Recebido para publicação em 20 julho 1987.

* Eng^o Agrônomo, M.Sc. Professor Assistente do Departamento de Fitotecnia da UFRRJ, Km 47 da Antiga Rio-SP, 23851, Seropédica, R.J.

** Hill Farming Research Organization, Bush State, Penicuik. Midlothian, EH 26 OPY, Scotland, UK.

*** Eng^o Agrônomo, PH.D., MA. EMBRAPA-UAPNPBS, Km 47, 23851, Seropédica, R.J.

gênio atmosférico, pode ser limitada entre outros fatores pela nodulação com estirpes nativas, que apesar de frequentes nem sempre são eficientes (24) pelo pH (8), umidade (26), temperatura (9), microrganismos antagonísticos (23) e deficiência de outros nutrientes (4).

Dentre a fatores nutricionais limitantes, o molibdênio é um dos mais importantes pois é elemento estrutural da enzima nitrogenase, responsável pela fixação biológica do nitrogênio (27). Este elemento encontra-se pouco disponível em solos ácidos (2, 29), sendo que vários autores tem relatado respostas de feijoeiro a adubação com Mo (6, 19). Foi ainda observado que plantas dependentes da simbiose são mais sensíveis à deficiência de Mo do que se elas fossem supridas com nitrogênio mineral (22). Diversos estudos tem sido realizados com plantas de feijoeiro visando maximizar a fixação biológica do nitrogênio. Experimentos tem sido conduzidos para se saber qual o motivo da queda da atividade da nitrogenase logo após o período da floração, quando existe um maior requerimento de nitrogênio para os grãos. Em soja essa queda não ocorre (30) fazendo com que o processo simbiótico seja mais eficiente para atender a demanda de nitrogênio nas partes reprodutivas (14).

Hungria (12) em experimentos conduzidos com o objetivo de verificar o efeito da disponibilidade de carbono para os nódulos de feijão, verificou que o

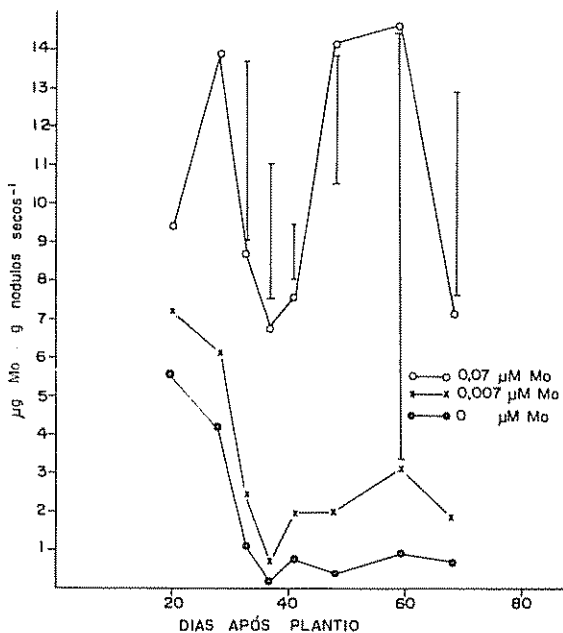


Fig. 1. Variação estacional da concentração de Mo nos nódulos de plantas de feijão, crescendo em solução nutritiva. Cada ponto é média de 6 repetições. As barras verticais representam os valores do teste Tukey ao nível $P \leq 0,05$, quando houve diferença significativa.

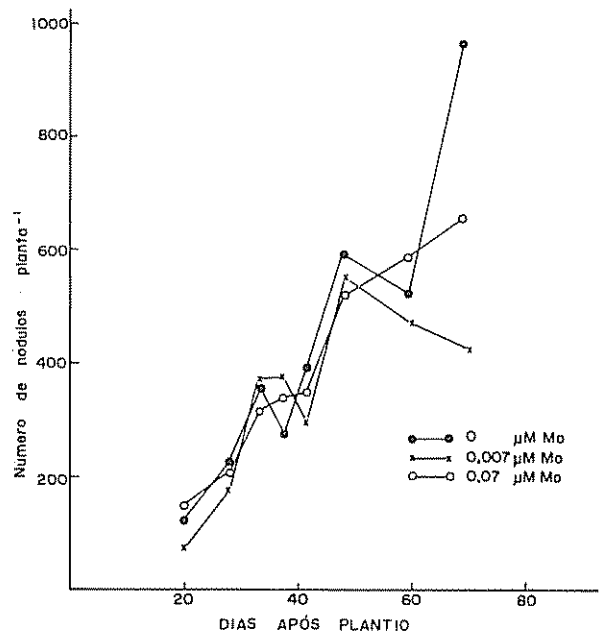


Fig. 2. Variação estacional do número de nódulos de plantas de feijão, crescendo em solução nutritiva. Cada ponto é média de 6 repetições.

suprimento de fotossintatos para os nódulos não era o principal fator limitando a fixação biológica do nitrogênio. Em condições de baixa disponibilidade de Mo, tanto o feijoeiro (7) como a soja (13) apresentam teores mais altos de Mo nos nódulos do que nas demais partes das plantas. Entretanto, poucos estudos tem sido realizados sobre a concentração ideal desse elemento nos tecidos das plantas (18) e sua possível variação estacional. Uma das hipóteses que poderia explicar a queda da atividade da nitrogenase no período pós-floração em feijoeiro poderia ser a queda da concentração de molibdênio nos nódulos diminuindo a eficiência do processo simbiótico, já que resultados preliminares indicaram haver diminuição da concentração de Mo nos nódulos com a idade da planta (7).

Desta forma, este trabalho teve como objetivo verificar a variação estacional da concentração de Mo nos nódulos, raízes e parte aérea de plantas de feijão crescidas em diferentes níveis deste elemento em solução nutritiva.

MATERIAS E MÉTODOS

O experimento foi instalado em solução nutritiva mantida constantemente aerada por borbulhamento com ar previamente filtrado em algodão hidrófilo em casa de vegetação. A temperatura média oscilava em torno de 26°C durante todo o ciclo da planta, nunca ultrapassando 30°C. As sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar 'Carioca' contendo 0,019 µg Mo semente⁻¹, foram germinadas em areia de quartzo por 5 dias, onde foi adicionado de 2 em 2 dias uma

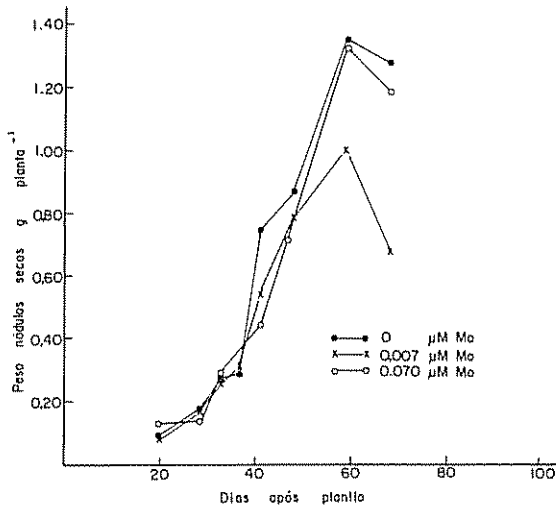


Fig. 3. Variação estacional do peso de nódulos secos de plantas de feijão crescendo em solução nutritiva (cada ponto é média de 6 repetições).

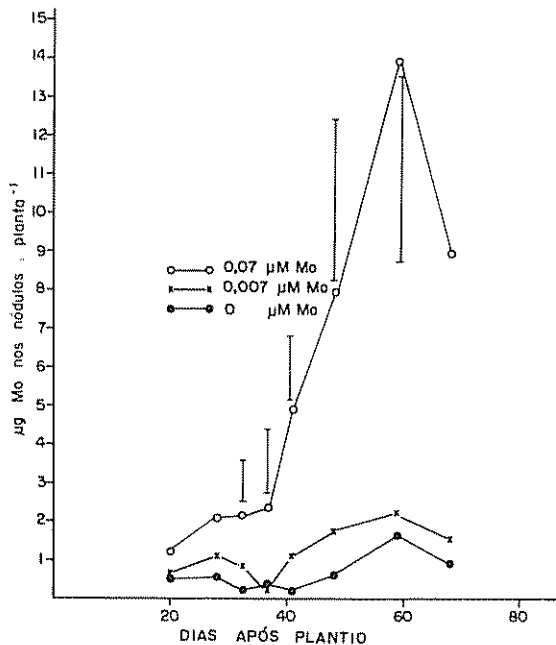


Fig. 4. Variação estacional do total de Mo nos nódulos de plantas de feijão, crescendo em solução nutritiva. Cada ponto é média de 6 repetições. As barras verticais representam os valores do teste Tukey ao nível $P \leq 0,05$, quando houve diferença significativa.

solução 0,5 mM de CaCl_2 . Posteriormente, as plantulas foram transferidas para recipientes de plástico (vasos) de 10L, com tampa de isopor com quatro furos separados onde as plantas eram fixadas com algodão, colocando-se 4 plantas por vaso.

O experimento constou de 36 vasos com 3 níveis de Mo. (0 – sem adição; 0,007 e 0,070 μM , sendo a fonte, o molibdato de sódio) sorteado em blocos ao

acaso. Em cada uma das 8 colheitas, iniciada após a segunda semana, para cada tratamento foram colhidas uma planta por vaso com 6 repetições. As sementes foram inoculadas no plantio com uma mistura das estirpes de *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* CO5 (CENA, Piracicaba-SP) + SEMIA 487 (IPAGRO – RS), crescidas em meio de extrato de levedura agarizado (YMA), descrito por Vincent (31), semi-sólido, adicionando aproximadamente 10^7 células por semente. A solução nutritiva foi preparada contendo: 1 mM KH_2PO_4 , 1 mM MgSO_4 , 1 mM CaCl_2 , 10 μM Fe-EDTA, 2 μM H_3BO_3 , 0,4 μM MnSO_4 , 0,16 μM ZnSO_4 e 0,04 μM CuSO_4 , e trocada semanalmente.

A solução utilizada na primeira semana, foi 50% mais concentrada que a acima descrita. Durante os 16 dias iniciais foi adicionado diariamente 1 mg nitrogênio/planta como NH_4NO_3 . O pH inicial da solução foi 5,0 ajustado diariamente com KOH ou H_2SO_4 baseado em Franco e Munns (8).

Em cada colheita foram realizadas as seguintes determinações: peso de nódulos, raízes e parte aérea após secagem por 72 horas a 65°C ; concentrações de molibdênio pelo método de Johnson e Ulrich (17) em nódulos, raízes, parte aérea e sementes; atividade da nitrogenase pelo método de redução de C_2H_2 em raízes destacadas com nódulos (21). Na oitava colheita foi determinado o nitrogênio total na parte aérea pelo método de Liao (20).

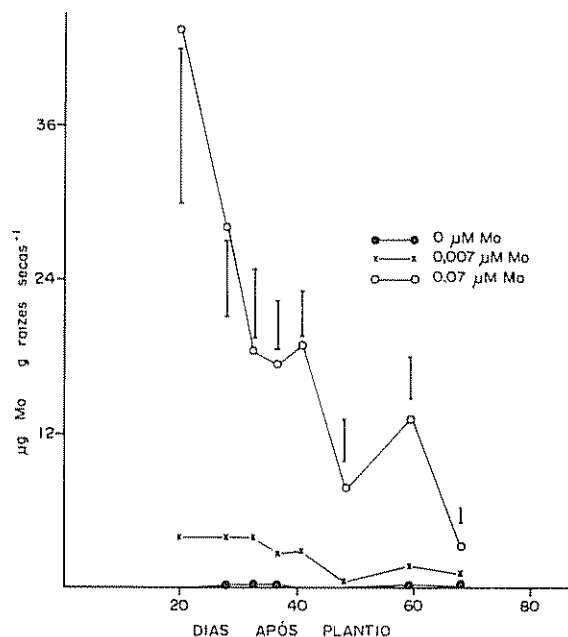


Fig. 5. Variação estacional da concentração de Mo nas raízes de plantas de feijão, crescendo em solução nutritiva. As barras verticais representam os valores do teste Tukey ao nível $P \leq 0,05$.

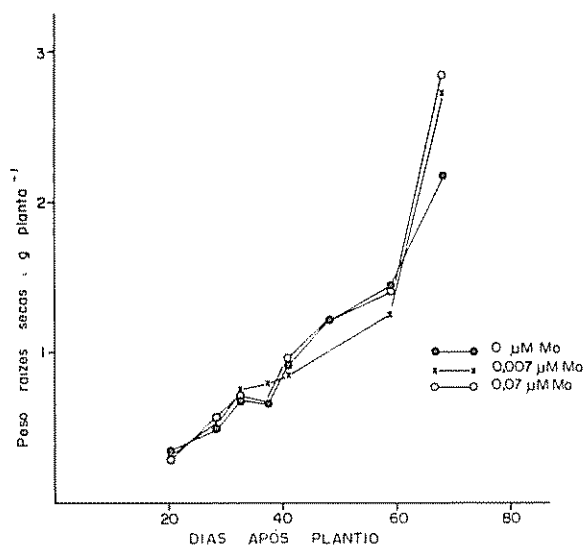


Fig. 6. Variação estacional do peso de raízes secas de plantas de feijão, crescendo em solução nutritiva. Cada ponto é média de 6 repetições.

RESULTADOS

Observou-se uma queda da concentração de Mo nos nódulos até aos 37 dias após plantio, principalmente nos níveis mais baixos de Mo na solução nutritiva (Fig. 1). Entre esses níveis menores não foram observadas diferenças estatisticamente significativas em todas as 8 colheitas. Logo após a floração nos níveis mais altos de Mo na solução houve um aumento da concentração de Mo nos nódulos, diminuindo novamente na última colheita.

A medida que o número (Fig. 2) e peso de nódulos (Fig. 3) foram aumentando, o total de Mo nos nódulos (Fig. 4) também foi crescendo até aos 59 dias quando ocorreu uma queda, acompanhando a diminuição do peso de nódulos secos. Entretanto, nos níveis menores de Mo na solução ocorreu uma tendência de queda no total de Mo nos nódulos aos 37 dias. Não havendo diferenças significativas entre esses níveis menores em todas as colheitas.

A concentração de Mo nas raízes caiu linearmente com o aumento de peso do sistema radicular (Figs. 5 e 6). Também aqui não foram encontradas diferenças significativas entre os níveis mais baixos, mas estas ocorreram entre épocas de colheitas nos níveis 0,007 e 0,070 μM de Mo na solução (dados não tabelados). Entretanto com relação ao total de Mo nas raízes (Fig. 7) não ocorreram diferenças estatísticas significativas entre as colheitas nos 3 níveis testados, apenas dentre os níveis de Mo analisados.

A concentração de Mo na parte aérea (Fig. 8) no nível 0,070 μM Mo foi aumentado gradativamente, mas a partir do 33º dia aumentou subitamente com um valor máximo aos 41 dias de 17,74 $\mu\text{g Mo} \cdot \text{g}^{-1}$. No nível 0,007 μM Mo este aumento não ocorreu tão acentuadamente, mas o valor máximo também ocorreu aos 41 dias após plantio. A concentração de Mo encontrada na parte aérea no nível zero, foi muito pequena, variando de 0,33 $\mu\text{g Mo} \cdot \text{g}^{-1}$ na 1ª colheita a valores não detectáveis no final. Comportamento semelhante foi observado com o total de Mo na parte aérea (Fig. 9).

A planta de feijão crescendo nestas condições com troca semanal da solução nutritiva, acumulou (nódulo + raiz + parte aérea) 237,14; 28,66 e 17,90 $\mu\text{g Mo}$, respectivamente nos níveis mais altos, médio e sem adição de Mo na solução.

Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre todos os níveis testados e em todas as épocas de colheitas, para os parâmetros, número e peso de nódulos (Figs. 2 e 3), atividade da nitrogenase ($\mu\text{ moles C}_2\text{H}_4 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{planta}^{-1}$) (Fig. 10) e peso de raízes (Fig. 6). Contudo considerando a atividade específica da nitrogenase (Fig. 11) aos 33 dias foram observadas diferenças significativas pelo teste de Duncan + 0,05 mas não pelo teste de Tukey dos dois tratamentos com adição de Mo em relação ao tratamento sem adição de Mo. Apesar de não afetar o peso das raízes e dos nódulos, a adição de Mo aumentou signi-

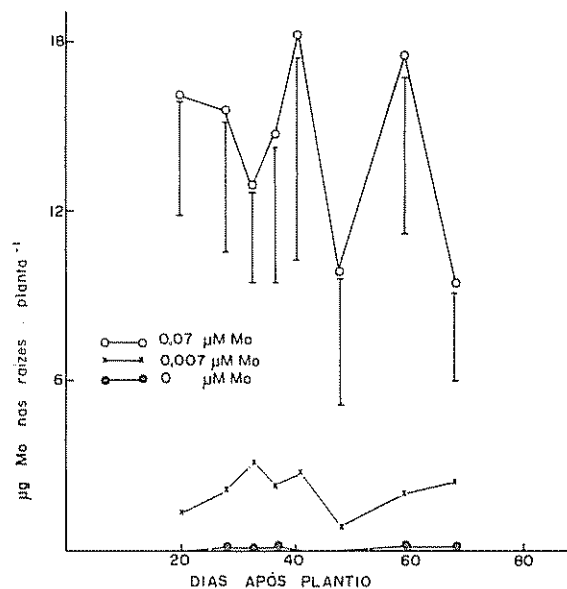


Fig. 7. Variação estacional do total de Mo nas raízes de plantas de feijão, crescendo em solução nutritiva. Cada ponto é média de 6 repetições. As barras verticais representam os valores do teste Tukey ao nível $P \leq 0,05$.

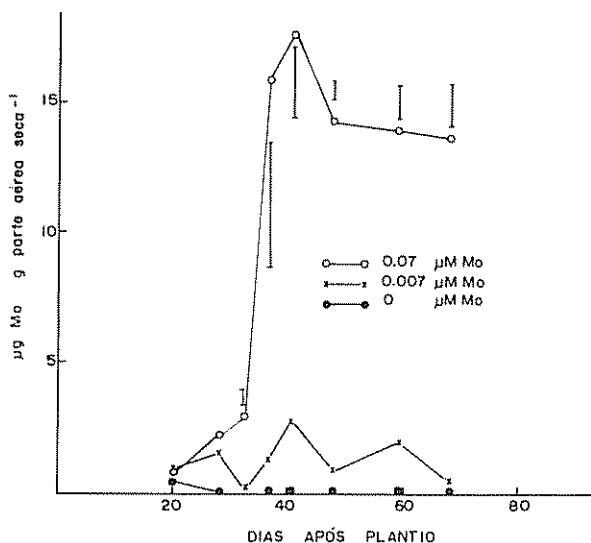


Fig. 8. Variação estacional da concentração de Mo na parte aérea de plantas de feijão, crescendo em solução nutritiva. Cada ponto é média de 6 repetições. As barras verticais representam os valores do teste Tukey ao nível $P \leq 0,05$, quando houve diferença significativa.

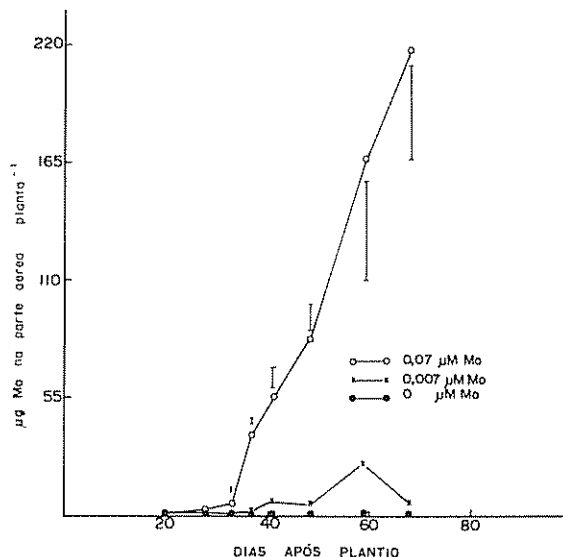


Fig. 9. Variação estacional do total de Mo na parte aérea de plantas de feijão, crescendo em solução nutritiva. Cada ponto é média de 6 repetições. As barras verticais representam os valores do teste Tukey ao nível $P \leq 0,05$, quando houve diferença significativa.

Tabela 1. Concentração de Mo nas sementes, nitrogênio total e peso da parte aérea de plantas de feijão crescendo em solução nutritiva. Colheita realizada no final do ciclo da planta (Média de 6 repetições).

Níveis de Mo na solução nutritiva	$\mu\text{g Mo} \cdot \text{g sementes}^{-1}$	$\mu\text{g Mo} \cdot \text{sementes planta}^{-1}$	$\mu\text{g Mo} \cdot \text{semente}^{-1}$	Nitrogênio total parte aérea (caule + folhas) ($\text{mg} \cdot \text{planta}^{-1}$)	%N	Peso da parte aérea (caule + folhas) ($\text{g} \cdot \text{planta}^{-1}$)
Sem adição Mo	nd 0c	nd 0b	nd 0c	152,77 b	1,49	10,52 b
0,007 μM	5,81 b	18,51 b	0,56 b	207,20 ab	1,40	14,45 b
0,070 μM	16,11 a	76,40 a	2,34 a	250,46 a	1,55	16,21 a
C.V. (%)	24	67	47	29	14	22

Números seguidos pela mesma letra não diferem pelo teste Tukey $\leq 0,05$, nd = Não detectado

ficativamente o peso das plantas, e o nitrogênio total acumulado na parte aérea (Tabela 1), não tendo entretanto efeito significativo sobre o peso de sementes (Resultados não apresentados) e na percentagem de nitrogênio.

As sementes obtidas na última colheita mostravam diferenças no conteúdo de Mo entre os 3 tratamentos, desde níveis não detectados no tratamento sem adição de Mo, até $2,34 \mu\text{g Mo} \cdot \text{semente}^{-1}$ no nível mais alto, tendo este nível $76,40 \mu\text{g Mo}$ nas sementes por planta

DISCUSSÃO

A principal função de Mo em plantas está ligada ao sistema de transferência de elétrons, como no caso da redução do nitrato pela redutase do nitrato e da fixação biológica do nitrogênio pela nitrogenase. Apesar dos vários estudos com Mo os conhecimentos sobre o papel ou mecanismo pelos quais o Mo é estocado, incorporado e metabolizado não estão ainda bem esclarecidos (27, 28).

A concentração de Mo encontrada nos nódulos neste trabalho diminuiu do 20º para 37º dia após o plantio (Fig. 1), principalmente nos níveis menores

de Mo disponível. O decréscimo desta concentração poderia ser atribuída à diluição do Mo na matéria seca dos nódulos (10), que foram aumentando de número e de peso, mas não explicaria a tendência observada de aumentar essa concentração, logo após a floração (Figs. 2 e 3)

A queda da atividade da nitrogenase após a floração no tratamento com $0.070 \mu\text{M}$ (Fig. 11), no qual a concentração de Mo nos nódulos (Fig. 1) estava acima do nível crítico de $3.66 \mu\text{g Mo} \cdot \text{g nódulo}^{-1}$, estabelecido por Jacob-Neto (15) mostra que a queda da atividade da nitrogenase geralmente encontrada logo após a floração em feijão também observado por outros autores (5, 12), possa ser devido somente à deficiência de Mo nos nódulos. As diferenças mais acentuadas na atividade da nitrogenase entre os tratamentos ocorreram do 33º dia (início da floração) até aos 41º dia (floração plena). Foi também nesse período que a concentração de Mo nos nódulos nos níveis menores de Mo na solução, caiu ao nível mínimo, permanecendo com pouca alteração até o final do ciclo das plantas

Devido à pequena massa de nódulos encontrada nas duas primeiras colheitas e ao avançado estado de putrefação encontrado nas duas últimas, as análises de Mo foram prejudicadas, acarretando grandes variações entre as amostras, o que dificultou detectar diferenças significativas, mesmo quando grandes diferenças foram observadas (Figs. 1 e 4).

Com o aumento do sistema radicular a concentração de Mo nas raízes diminuiu linearmente, isso fica claro pela correlação significativa ($r = -0.78^*$) entre

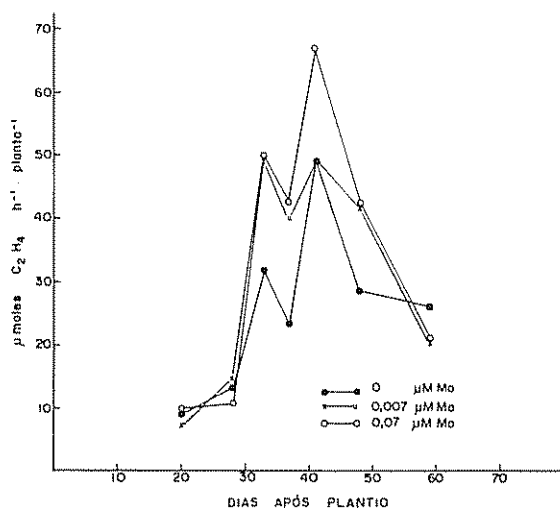


Fig. 10. Variação estacional da atividade da nitrogenase por planta de feijão, crescendo em solução nutritiva. Cada ponto é média de 6 repetições

o peso de raízes e a concentração no nível $0.070 \mu\text{M}$ Mo (Figs. 5 e 6). Na primeira colheita do nível zero, não foi possível detectar Mo nas raízes pelo método utilizado e nas demais colheitas as concentrações encontradas foram baixas, de maneira geral melhor do que a dos nódulos no mesmo nível e semelhante as da parte aérea. Isso mostra que em baixa disponibilidade de Mo, as plantas de feijão apresentam as maiores concentrações deste nutriente nos nódulos, o mesmo não ocorrendo nos níveis mais altos havendo nestas condições maior concentração de Mo na parte aérea das plantas. Resultados semelhantes foram observados anteriormente (7, 15).

O total de Mo nas raízes permaneceu praticamente sem alteração entre as colheitas em todos os níveis testados. Sugerindo que apesar da concentração diminuir nos nódulos por efeito de diluição ou imobilização, a quantidade de Mo nas raízes permaneceu praticamente a mesma (Fig. 7), talvez porque o Mo seria absorvido pelas raízes, mas rapidamente translocado para a parte aérea. A maior concentração de Mo na parte aérea ocorreu aos 41 dias nos níveis 0.007 e $0.070 \mu\text{M}$ Mo. Conforme observado por Franco e Munn (7) em níveis altos de disponibilidade de Mo há um acúmulo de Mo na parte aérea. Nossos resultados indicam que esse acúmulo ocorre com maior intensidade a partir do 33º dia (Figs. 8 e 9). Isso levanta a hipótese de que após a floração, em situações de pouca disponibilidade, o Mo poderia ser translocado para a parte aérea, ficando em níveis de deficiência nos nódulos. Hecht-buchholz (11) observou que o Mo acumulava nos vacúolos do parênquima vascular de feijão e que esta espécie é tolerante a

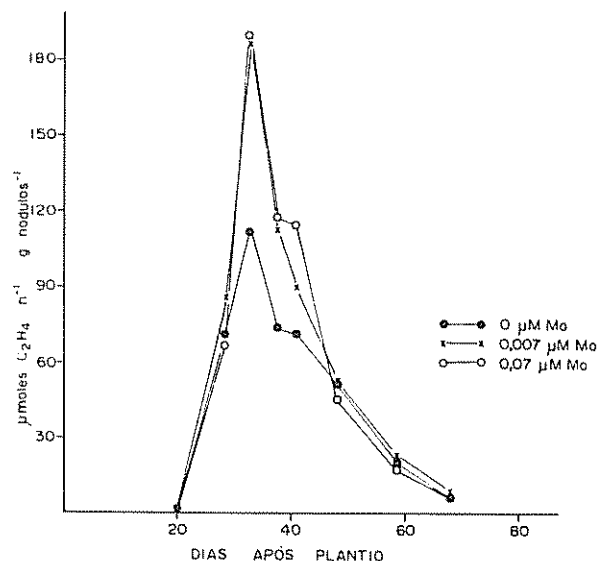


Fig. 11. Variação estacional da atividade da nitrogenase específica de plantas de feijão crescendo em solução nutritiva (cada ponto é média de 6 repetições).

níveis altos de Mo. Entretanto Franco e Döbereiner (4) e Braga (1) encontraram efeito de toxidez provocado por Mo em plantas de feijão.

O acúmulo de Mo encontrado nas sementes no nível mais alto (Tabela 1) estão de acordo com os dados obtidos por Wilson (32) e Jacob-Neto (16). Com um aumento de 10 vezes da concentração de Mo na solução nutritiva, ocorreu um aumento de 4,18 vezes na quantidade de Mo na semente.

Considerando todo o Mo adicionado na solução nutritiva, 58,37 e 52,73% do Mo adicionado foi absorvido pelas plantas respectivamente nos níveis mais alto e médio. Do Mo absorvido, 24% no nível alto e 65% no nível médio foram translocados para as sementes. Como houve diferença significativa no nitrogênio total acumulado entre níveis de Mo em solução (Tabela 1), e pela queda da concentração de Mo nos nódulos com a idade da planta até o início da floração, estes resultados indicam que esta seria a melhor época para amostragem dos nódulos para determinação de deficiência de Mo.

De maneira geral, as concentrações de Mo encontrados nas raízes, nódulos e parte aérea variaram com

a idade da planta. Portanto trabalhos que estudem concentrações de Mo nos tecidos de plantas de feijão, devem levar em conta além da cultivar, concentração externa e tipo de tecido (7), as épocas de amostragens.

CONCLUSÕES

A queda da atividade da nitrogenase logo após a floração, ocorreu mesmo com suprimento adequado do Mo.

Os dados sugerem que o início da floração à floração plena, foi o período indicado para amostragens dos nódulos, para análise de deficiência de Mo.

Em níveis baixos de disponibilidade de Mo, foram nos nódulos que se encontraram as maiores concentrações de Mo.

As concentrações de Mo nos tecidos da planta de feijão, variaram com a idade da planta.

Foram translocados para as sementes 24 e 65% do Mo absorvido pelas plantas, respectivamente no nível mais alto e médio de Mo disponível.

LITERATURA CITADA

- BRAGA, J.M. 1972. Resposta do feijoeiro Rico 23 a aplicação de enxofre, boro e molibdênio. *Ceres* (Bra.) 19:222-226.
- BATAGLIA, O.C.; FURLANI, P.R.; VALADARES, J.M.A.S. 1976. O molibdênio em solos do Estado de São Paulo. In Congresso Brasileiro de Ciência do Solo 15 (1975, Campinas, Bra.). Anais. Campinas, Bra., Sociedade Brasileira de Ciência do Solo p. 107-111.
- DUQUE, F.F.; NEVES, M.C.P.; FRANCO, A.A.; VITÓRIA, R.L.; BODDEY, R.M. 1985. The response of field grown *Phaseolus vulgaris* to *Rhizobium* inoculation and the quantification of N_2 fixation using ^{15}N . *Plant and Soil* (Holanda) 88:333-343.
- FRANCO, A.A.; DOBEREINER, J. 1967. Especificidade hospedeira na simbiose *Rhizobium* - feijão e influência de diferentes nutrientes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* (Bra.) 2:467-474.
- FRANCO, A.A.; PEREIRA, J.C.; NEYRA, C.A. 1979. Seasonal patterns of nitrate reductase and nitrogenase activities in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Physiology* (EE UU) 63:421-424.
- FRANCO, A.A.; DAY, J.M. 1980. Effects of lime and molybdenum on nodulation and nitrogen fixation of *Phaseolus vulgaris* L. in acid soils of Brazil. *Turrialba* (C.R.) 30(2):99-105.
- FRANCO, A.A.; MUNNS, D.N. 1981. Response of *Phaseolus vulgaris* L. to molybdenum under acid conditions. *Soil Science Society of America Journal* (EE UU) 45:144-148.
- FRANCO, A.A.; MUNNS, D.N. 1982. Acidity and aluminum restraints on nodulation, nitrogen fixation, and growth of *Phaseolus vulgaris* in solution culture. *Soil Science Society of America Journal* (EE UU) 46:296-301.
- GUSS, A.; DOBEREINER, J. 1972. Efeito da adubação nitrogenada e da temperatura do solo na fixação do nitrogênio em feijão (*Phaseolus vulgaris*). *Pesquisa Agropecuária Brasileira* (Bra.) 7:87-92.
- HAWES, R.L.; SIMS, J.L.; WELLS, K.L. 1976. Molybdenum concentration of certain crop species as influenced by previous applications of molybdenum fertilizer. *Agronomy Journal* (EE UU) 68:217-218.
- HECHT-BUCHHOLZ, C. 1973. Molybdanverteilung unvertraglichkeit bei tomate, sonnenblume und Bohne. *Zeitschrift fuer Pflanzenernaehrung und Bodenkunde* (Alemania) 136:110-119.

12. HUNGRIA, M. 1985. Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em *Phaseolus vulgaris* L. Tese Doutorado Rio de Janeiro, UFRRJ. 292 p
13. ISHIZUKA, J. 1982. Characteristics of molybdenum absorption and translocation in soybean plants. Soil Science and Plant Nutrition (Japón) 28:63-71.
14. ISRAEL, D.W. 1981. Cultivar and *Rhizobium* strain effects on nitrogen fixation and remobilization by soybeans Agronomy Journal (EE UU) 73:509-516
15. JACOB-NETO, J. 1985. Variação estacional, concentração nas sementes e níveis críticos de Mo nos nódulos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) Tese de Mestrado Itaguaí, UFRRJ. 141 p
16. JACOB-NETO, J.; FRANCO, A.A. 1986. Adubação de molibdênio em feijoeiro. Seropédica, EMBRAPA-UAPNPBS. Comunicado Técnico, 1. 4 p.
17. JOHNSON, C.M.; ULRICH, A. 1959. Analytical methods for use in plant analysis. California Agricultural Experiment Station Bulletin no 766.
18. JOHNSON, C.M. 1973. Molybdenum. In Diagnostic Criteria for Plants and Soils. Ed. by H.D. Chapman. University of California, Riverside, California, Division of Agricultural Sciences. p 286-301.
19. JUNQUEIRA-NETTO, A.; SANTOS, O.S. Dos; AIDA, H.; VIEIRA, C. 1977. Ensaio preliminares sobre a aplicação de molibdênio e de cobalto na cultura de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) Ceres (Bra) 24:628-633.
20. LIAO, C.F.H. 1981. Devard's alloy method for total nitrogen determination. Soil Science Society of America Journal 45:852-855
21. MAGUE, I.H.; BURRIS, R.H. 1972. Reduction of acetylene and nitrogen by field grown soybeans. New Phytologist 71:275-276.
22. PARKER, M.B.; HARRIS, H.B. 1977. Yield and leaf nitrogen of nodulating and non-nodulating soybeans as affected by nitrogen and molybdenum. Agronomy Journal 69:551-554.
23. PITARD, R.M.; BODDEY, R.M.; DOBEREINER, J. 1982. Efeito de actinomicetos e de estreptomicina na nodulação de *Phaseolus vulgaris* L. In Reunião Nacional de Pesquisa de Feijão, 1, Goiânia 1982. Anais ..., Goiânia, GO. p. 313-315.
24. RENNIE, R.J.; KEMP, G.A. 1983. N₂-fixation in field beans quantified by ¹⁵N isotope dilution. I. Effect of strain of *Rhizobium phaseoli* Agronomy Journal 75:640-644.
25. RUSCHEL, A.P.; VOSE, P.B.; MATSUI, E.; VICTORIA, R.L.; SAITO, S.M.T. 1982. Field evaluation of N₂-fixation and nitrogen utilization by *Phaseolus* bean varieties determined by ¹⁵N isotope dilution Plant and Soil 65:397-407
26. SAITO, S.M.T.; BONETTI, R.; URQUIAGA, S.; VICTORIA, R.L. 1982. Nodulação e utilização de nitrogênio e fósforo em duas variedades de *Phaseolus vulgaris* L. sob deficit de água. In 1ª Reunião Nacional de Pesquisa de Feijão, 1, Goiânia, 1982. Anais ... Goiânia-GO. 316 p.
27. SHAH, V.K.; UGALDE, R.A.; IMPERIAL, J.; BRILL, W.J. 1984. Molybdenum in nitrogenase. Annual Review of Biochemistry 53:231-257.
28. SHERRELL, C.G. 1984. Effect of molybdenum concentrations in the seed on the response of pasture legumes to molybdenum. New Zealand Journal of Agricultural Research 27:417-423
29. SIQUEIRA, C.; VELOSO, A.C. 1978. Adsorção de molibdato em solos sob vegetação de cerrado. Revista Brasileira de Ciência do Solo 2:24-28.
30. THIBODEAU, P.S.; JAWORSKI, E.G. 1975. Patterns of nitrogen utilization in the soybean. Planta 127:133-147.
31. VINCENI, J.A. 1970. A manual for the practical study of the root nodule bacteria. Oxford, IBP Handbook Brockwell Scientific Publication. 164 p.
32. WILSON, R.D. 1949. Molybdenum in relation to the scald disease of beans. Australian Journal of Science 11:209-211.

Inhibition of Growth and Interference with ^{14}C -Leucine Uptake and Incorporation into Protein in Non-chlorophyllaceous Sugarcane Cells by Ametryn¹

N. Ochoa-Alejo*, O.J. Crocomo**

ABSTRACT

Non-chlorophyllaceous sugarcane cells derived from *Saccharum* spp. var. NA56-79 were used to study the effect of ametryn, a triazine herbicide, on cell growth and the uptake and incorporation of ^{14}C -leucine into protein. Cell suspensions exposed to 40 mg l^{-1} ametryn for 20 days showed 75% growth inhibition as compared to the control. Total inhibition of growth was observed in the presence of 80 and 160 mg l^{-1} ametryn. Cells pretreated for 1 hour with ametryn and incubated with ^{14}C -leucine for 2 hours in the presence of 2 to 160 mg l^{-1} of the herbicide showed a reduction in ^{14}C -leucine uptake and incorporation into protein. Pulse-chase experiments showed interference with the incorporation of ^{14}C -leucine in the presence of 80 and 160 mg l^{-1} ametryn, revealing alterations in the metabolism of proteins.

COMPENDIO

Células no clorofiladas derivadas de *Saccharum* spp. var. NA56-79 fueron utilizadas para estudiar el efecto del ametryn, un herbicida triazínico, sobre el crecimiento celular y sobre la absorción e incorporación de leucina- ^{14}C en proteínas. Las suspensiones celulares expuestas a 40 mg l^{-1} de ametryn durante 20 días mostraron 75% de inhibición de crecimiento comparadas con el control. En presencia de 80 y 160 mg l^{-1} de ametryn se observó inhibición total del crecimiento. Células pretratadas con ametryn durante 1 hora e incubadas con leucina- ^{14}C por 2 horas, en presencia de 2 a 160 mg l^{-1} del herbicida exhibieron una reducción en la absorción e incorporación en proteínas. Experimentos de pulso mostraron interferencia en la incorporación de leucina- ^{14}C en presencia de 80 y 160 mg l^{-1} de ametryn, revelando alteraciones en el metabolismo de proteínas.

INTRODUCTION

The herbicide ametryn [2-(ethylamino)-4-(isopropylamino)-6-(methylthio)-s-triazine] inhibits the Hill reaction during photosynthesis by interacting with the electron transport carrier B of photosystem II. This interaction has been proposed as the primary mechanism of action of the triazine herbicides (9, 14). However, triazines also induce alterations in metabolic processes other than photosynthesis; for example, atrazine and propazine (10^{-5} to 10^{-3} M) have been shown to inhibit the growth of excised roots of *Lens culinaris* (18). Stimulation of alfalfa and tobacco seed germination in the presence of subtoxic concentrations of ametryn and atrazine has been observed (4). Triazines (10^{-4} M), including ametryn, were capable of inhibiting respiration to the same extent in mitochondria isolated from rat liver and *Phaseolus vulgaris* tissues (20)

Non-chlorophyllaceous plant cells cultured *in vitro* offer an advantage to the investigation of the effects of triazines on metabolic processes, as interference with photosynthesis is eliminated (7, 10, 12, 16). We previously reported different levels of inhibition of growth and a decline in the total protein content of non-chlorophyllaceous callus cultures of three sugarcane varieties grown in the presence of ametryn (6). These data suggest that ametryn disturbs protein metabolism. It was therefore of interest to investigate in further detail the effects of ametryn on cell growth and on protein metabolism using ^{14}C -leucine as a tracer in non-chlorophyllaceous sugarcane cell suspensions.

MATERIALS AND METHODS

Cell suspensions

Non-chlorophyllaceous sugarcane cell suspensions were established from callus induced from stems of plantlets of *Saccharum* spp. var. NA56-79, as previously reported (5). The suspensions were maintained in the basal medium formulated by Murashige and Skoog (15) supplemented with the following substances: 2,4 dichlorophenoxyacetic acid (3 mg l^{-1}), arginine (60 mg l^{-1}), thiamine (1 mg l^{-1}), sucrose ($20\,000\text{ mg l}^{-1}$), and coconut milk (100 ml l^{-1}). The pH was adjusted to 5.8.

¹ Received for publication 15 October 1987.

* Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN- Unidad Irapuato, Apartado Postal 629, 36500 Irapuato, Gto, México

** Centro de Biotecnología Agrícola-CEBTEC (USP/ESALQ), Fundação de Estudos Agrários Luiz Queiroz, Caixa Postal 9, 13400-Piracicaba, SP, Brazil

Growth assays

The growth assays and subsequent tests were performed using 8 to 10 day-old cell cultures under sterile conditions. The reaction mixture contained sugarcane cells with an equivalent dry weight of approximately 5 mg (d.w., calculated after drying at 115°C for 2h) and ametryn in methanol 50% (v/v) to give final concentration of 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 40, 80 and 160 mg l⁻¹. The concentration of methanol in all treatments and in the control was 2% (v/v), and the total volume of the reaction mixture was 5 ml (20 ml glass vials). The herbicide solutions were previously sterilized by filtration using 0.45 µm Millipore membranes. Cultures were incubated on a rotary shaker (180 rpm), at 24 ± 2°C in darkness for 20 days (time necessary to reach maximum growth under normal conditions). The cells were harvested in Miracloth discs, washed with 50 ml distilled water and dried in an oven (2h; 115°C) for dry weight determinations.

Uptake and incorporation of ¹⁴C-leucine

¹⁴C-leucine uptake and incorporation into protein were measured following the method described by Francki *et al.*, (8). The reaction mixture contained a quantity of sugarcane cells equivalent to approximately 5 mg d.w. in 4.6 ml fresh medium plus 0.2 ml of herbicide solution or 0.2 ml of 50% methanol (control) in 20 ml glass vials. The suspensions were incubated for 1h at 24 ± 2°C in darkness on a rotary shaker at 180 rpm. Subsequently 0.2 ml of ¹⁴C-leucine solution containing 0.3 µCi (¹⁴C-U-leucine; 348 mCi. mmole⁻¹; purchased from Amersham Corporation, USA) was added to the reaction mixture. Incubation was continued for 2h more under the same conditions. For measurement of total ¹⁴C-leucine absorbed 1 ml samples of cell suspensions were taken and the cells collected on Reeve Angel filters (grade 934 AH). The cells were washed 3 times with 3 ml volumes (3 x 3 ml) of chilled sorbitol (0.6 M) + leucine (10⁻³M) solution.

Incorporation of ¹⁴C-leucine into proteins was determined for 1 ml samples washed with 0.6 M sorbitol + 10⁻³M leucine (3 x 3 ml), 10% trichloroacetic acid (TCA; 3 x 5 ml), and 80% ethanol (3 x 5 ml). The samples were dried at 85°C for 15 min and the radioactivity measured by liquid scintillation using a Beckman LS-230 system. The scintillation fluid employed contained 100 mg 1,4-bis 2(5-phenyloxazolyl) benzene (POPOP) + 3 g 2,5-diphenyloxazole (PPO)/300 ml absolute ethanol + 700 ml toluene.

Pulse-chase assays

Sugarcane cells (ca 37.5 mg d.w.) were incubated with 0.9 µCi ¹⁴C-leucine in a total volume of 7.5 ml of reaction mixture in 50 ml Erlenmeyer flasks on a rotary shaker (180 rpm), at 24 ± 2°C in darkness for 2h. The suspension was centrifuged at 1500 rpm for 2 min and the supernatant (non-absorbed ¹⁴C-leucine) was discarded. The cells were washed by centrifugation with fresh medium (3 x 10 ml) and resuspended. Aliquots of 2.4 ml containing 2.5 mg d.w. were dispensed into 20 ml glass vials and 0.1 ml of ametryn solution was added. The suspensions were incubated at 24 ± 2°C in darkness for 24h with agitation. The reaction was stopped by adding 2.5 ml of chilled 20% TCA. Samples of 2 ml were collected, washed, and analysed in order to measure the incorporation of ¹⁴C-leucine into proteins

RESULTS AND DISCUSSION

Effect on growth

Sugarcane cells incubated in 0.5 to 5 mg l⁻¹ (2.2 x 10⁻⁶ to 2.2 x 10⁻⁵M) ametryn showed no growth inhibition (Fig. 1). At a concentration of 10-20 mg l⁻¹ (4.4-8.8 x 10⁻⁵M) ametryn, growth inhibition was about 7% that of the control. However, the negative effect was greater in the presence of 40 mg l⁻¹ (1.76 x 10⁻⁴M) of the herbicide (ca 75%

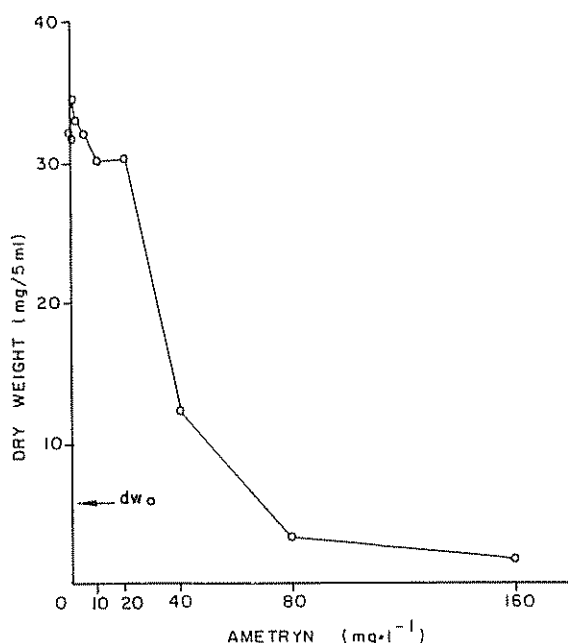


Fig. 1 Effect of ametryn concentration on the growth of sugarcane cell suspensions. dw₀ indicates the cell mass of the initial inoculum. Each value is the mean of 2 replicates.

inhibition) and growth was totally suppressed by concentrations of 80 and 160 mg l^{-1} (3.5 and $7 \times 10^{-4}\text{M}$) ametryn. Growth inhibition of non-photosynthetic callus cultures of *Glycine max* and *Nicotiana tabacum* treated with 10^{-6} and 10^{-7}M atrazine, respectively, has been reported (7, 10). Nevertheless, subtoxic concentrations of atrazine (10^{-9} to 10^{-15}M) have been found to be effective in promoting soybean callus growth (7). Growth stimulation has also been observed in sorghum callus grown on media containing either 0.5 mg l^{-1} ametryn, atrazine, prometryn, propazine or simazine (16). These results indicate that triazines affect metabolic processes essential to all growth other than photosynthesis.

Influence on uptake and incorporation of ^{14}C -leucine

The uptake of ^{14}C -leucine decreased when ametryn was supplied at concentrations of 2 mg l^{-1} ($8.8 \times 10^{-6}\text{M}$) and higher (Fig. 2). A similar trend was observed in relation to ^{14}C -leucine incorporation into proteins. Prometryn has also been shown to inhibit absorption and incorporation of ^{14}C -leucine into protein in cotyledonary tissues of *Cucumis sativus* (21). Several authors have reported alterations in the incorporation of ^{14}C -leucine by plant cells and tissues of different sources induced by triazines. Enzymatically isolated photosynthetic bean leaf cells showed a decrease of 13 and 35% in the incorporation of radioactivity into protein when they were treated with 10^{-5}M and 10^{-4}M atrazine respectively (1). On the other hand, subtoxic concentrations of simazine (10^{-8}M) have been shown to increase the incorporation of ^{14}C -leucine into protein in barley seedlings (19). Similar observations have been reported by Bush and Ries (2) for embryo axes of *Phaseolus vulgaris* treated with $2.2 \times 10^{-8}\text{M}$ atrazine. These data have led to the conclusion that such herbicides affect protein metabolism. However, in all these studies, the possibility of alterations in ^{14}C -leucine incorporation through interference with amino acid uptake was not eliminated.

Pulse-chase experiments

Pulse-chase experiments were carried out in order to study the influence of ametryn on the incorporation of ^{14}C -leucine into proteins in the absence of possible interference with amino acid uptake. Sugarcane cells supplied with ametryn at concentrations of 0.5 to 40 mg l^{-1} (2.2×10^{-6} to $1.76 \times 10^{-4}\text{M}$) showed no decrease in ^{14}C -leucine incorporation (Fig. 3). However, in the presence of 80 and 160 mg l^{-1} (3.5 and $7 \times 10^{-4}\text{M}$) ametryn there was a reduction of approximately 30 and 100% respectively in comparison with the radioactivity incorporated into proteins in the control cells during the 24h chase, indicating alterations in protein synthesis.

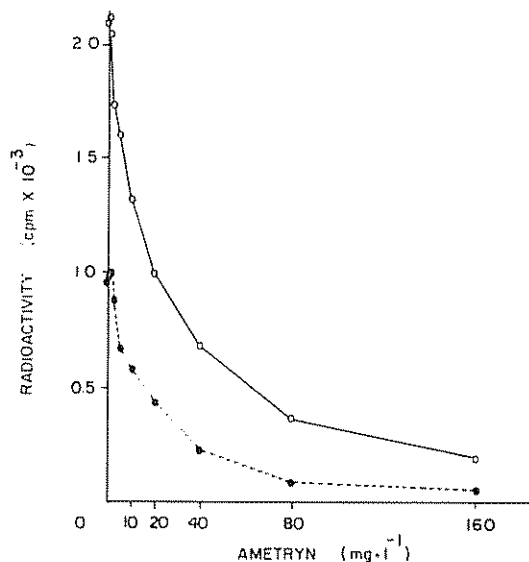


Fig. 2. Influence of ametryn concentration on the uptake and incorporation of ^{14}C -leucine into protein in sugarcane cells. (\circ — \circ), total radioactivity absorbed; (\bullet — \bullet), radioactivity incorporated into protein. Each value is the mean of 2 replicates.

The negative effect of ametryn at concentrations between 2 to 40 mg l^{-1} on uptake and incorporation of ^{14}C -leucine into protein (Fig. 2) did not show a direct correlation with the inhibition of incorporation in pulse-chase experiments. It is possible, however, that in this concentration range ametryn may act indirectly on the incorporation of ^{14}C -leucine into protein by reducing the uptake of the amino acid into the cells. Evidence in favour of this hypothesis is reported in the work of Mann *et al.* (11). These workers used ^{14}C - α -aminobutyric acid, an amino acid that is not incorporated into proteins, and observed a decline in its uptake by barley and *Sesbania* tissues in the presence of 5 mg l^{-1} atrazine. The results in the present study suggest that ametryn might interfere with the ^{14}C -leucine uptake at low concentrations while altering protein metabolism at higher concentrations in non-chlorophyllaceous sugarcane cells.

The data obtained in the present work is not sufficient to define the mechanism of action of ametryn on amino acid uptake and protein metabolism. Nevertheless, the results do reveal an effect of ametryn on protein turnover. Ametryn might exert its influence directly on protein synthesis through interaction with some component involved in the translation process. Future experiments with an *in vitro* protein synthesis system could demonstrate this hypothesis. Alternatively, ametryn might act indirectly on protein synthesis by affecting metabolic pathways common to peptide chain formation and amino acid uptake. Since both processes are energy-dependent the most obvious candidate would seem to be ATP metabolism. Indeed, triazines have previously been reported to interfere with respiration and hence oxidative phos-

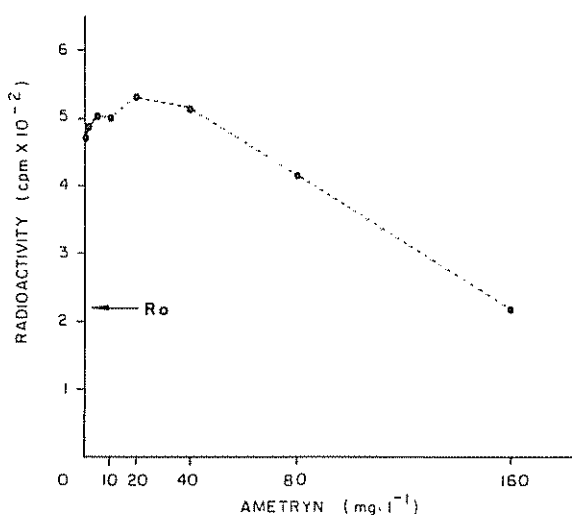


Fig. 3 Effect of ametryn concentration on the ^{14}C -leucine incorporation into protein in sugarcane cells after a 2h pulse followed by a 24 h chase. R_0 indicates radioactivity incorporated following the pulse. Each value is the mean of 2 replicates.

phorylation (12, 20). Herbicides known to reduce cellular ATP levels have also been shown to be powerful inhibitors of protein and RNA synthesis (3, 13). Recently, ametryn (40 mg l^{-1}) has been demonstrated to inhibit RNA synthesis in non-chlorophyllaceous sugarcane cell suspensions (17). However, it does not appear to affect *in vitro* transcription of chromatin isolated from such cells, suggesting an indirect mechanism of action of this herbicide. The possibility that ametryn interferes with amino acid uptake, and with protein and RNA synthesis by altering ATP metabolism will be investigated in further studies.

In conclusion, these observations indicate that besides its known effect on photosynthesis, ametryn also influences several biochemical processes necessary for cell growth.

LITERATURE CITED

1. ASHTON, F.M.; DE VILLIERS, O.I.; GLENN, R.K.; DUKE, W.B. 1977. Localization of metabolic sites of action of herbicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 7:122-141.
2. BUSH, P.B.; RIES, S.K. 1974. Effect of atrazine on elongation of the embryonic axis of red kidney bean. *Weed Science* 22:227-229.
3. CHAND, S.; ROY, S.C. 1981. Effects of herbicide 2, 4-dinitrophenol on mitosis, DNA, RNA, and protein synthesis in *Nigella sativa* L. *Biologia Plantarum (Praha)* 23:198-202.
4. COPPING, L.G.; DAVIS, D.E.; PILLAI, C.G.P. 1972. Growth regulator-like activity of atrazine and ametryn. *Weed Science* 20:274-277.
5. CROCOMO, O.J.; OCHOA-ALEJO, N. 1983. Herbicide tolerance in regenerated plants. In *Handbook of plant cell culture*, Ed. by D.A. Evans; W.R. Sharp; P.V. Ammirato; Y. Yamada. vol. 1, p. 770-781. New York, MacMillan.
6. CROCOMO, O.J.; OCHOA-ALEJO, N.; GONÇALVES, C.H.R.P.; BACCHI, O.O.S. 1981. Tolerância de variedades de cana-de-açúcar a herbicidas utilizando a técnica de cultura de tecidos. *Anais do 2º Congresso Nacional de Sociedade de Técnicos Açucareiros do Brasil* 2:21-40.
7. EBERTI, E.; VAN ASSCHE, C.J. 1969. Influence of atrazine (2-chloro-4-ethylamino-6-isopropylamino-s-triazine) on auxin metabolism of plants. *Experientia* 25:758-759.
8. FRANCKI, R.I.B.; ZAITLIN, M.; JENSEN, R.G. 1971. Metabolism of separated leaf cells II. Uptake and incorporation of protein and ribonucleic acid precursors by tobacco cells. *Plant Physiology* 48:14-18.
9. GARDNER, G. 1981. Azidoatrazine: photoaffinity label for the site of triazine herbicide action in chloroplasts. *Science* 211:937-940.
10. JORDAN, L.S.; MURASHIGE, T.; MANN, J.D.; DAY, B.E. 1966. Effect of photosynthesis-inhibiting herbicides on non-photosynthetic tobacco callus tissue. *Weeds* 14:134-136.
11. MANN, J.D.; JORDAN, L.S.; DAY, B.E. 1965. A survey of herbicides for their effect upon protein synthesis. *Plant Physiology* 40:840-843.
12. METCALF, E.C.; COLLIN, H.A. 1978. The effect of simazine on the growth and respiration of a cell suspension culture of celery. *New Phytologist* 81:243-248.
13. MORELAND, D.E. 1980. Mechanisms of action of herbicides. *Annual Review of Plant Physiology* 31:597-638.
14. MULLET, J.E.; ARNIZEN, C.J. 1981. Identification of a 32-34-kilodalton polypeptide as a herbicide receptor protein in photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta* 635:231-248.
15. MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-497.
16. NADAR, H.M.; CLEGG, M.D.; MARANVILLE, J.W. 1975. Promotion of sorghum callus growth by the s-triazine herbicides. *Plant Physiology* 56:747-751.
17. OCHOA-ALEJO, N.; CROCOMO, O.J. 1986. Influence of ametryn on chromatin activity and on RNA synthesis in a non-chlorophyllaceous sugarcane cell suspension. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 126:355-363.

18. PILET, P.E.; GASCHEN, M. 1961. Action comparée de l'acide β -indolyl-acétique et de quelques dérivés triaziniques. *Revue Generale de Botanique* 68: 431-442.
19. PULVER, E.L.; RIES, S.K. 1973. Action of simazine in increasing plant protein content. *Weed Science* 21:233-237.
20. THOMPSON, O.C.; TRUELOVE, B.; DAVIS, D.E. 1974. Effect of triazines on energy relations of mitochondria and chloroplasts. *Weed Science* 22: 164-166.
21. TRUELOVE, B.; JONES, L.R.; DAVIS, D.E. 1973. Light and prometryne effects on leucine uptake and incorporation. *Weed Science* 21:24-27.

Reseña de Libros

LEON, J. 1987. *Botánica de los cultivos tropicales*. San José, Costa Rica, IICA. 445 p. (Libros y Materiales Educativos no. 84).

Después de casi 20 años, el Servicio Editorial del IICA publica una nueva edición del libro originalmente titulado *Fundamentos Botánicos de los Cultivos Tropicales*, escrito por el costarricense Dr Jorge León.

Esta nueva edición se titula *Botánica de los Cultivos Tropicales* y viene a llenar el gran vacío que quedó al agotarse el libro original, que tuvo gran acogida entre técnicos y estudiantes de las ciencias agrícolas.

La revisión del libro ha incluido una gran actualización en los aspectos de sistemática y nomenclatura. La organización del libro es la misma y sólo se hizo un reacomodo de ciertas secciones de la parte general o introductoria del libro, que se relaciona con los capítulos de diversidad genética, domesticación de plantas, origen de las plantas y la historia del origen de la agricultura.

La parte puramente sistemática viene dividida como antes en los dos grandes grupos de monocotiledoneas y dicotiledoneas y se incluyen todas aquellas familias y especies de interés en los trópicos.

El libro está dirigido a los estudiantes de agronomía de América Latina y con eso en mente se usa terminología propia de estos países, aunque para el lenguaje botánico se ha recurrido al diccionario de P. Font Quer. Por estas razones es particularmente útil al estudiante, pero debe enfatizarse que es una obra de consulta que no le debe faltar a cualquier persona cuyo quehacer esté ligado con la agricultura tropical.

También debe mencionarse el hecho muy significativo que esta nueva edición eliminó muchas referencias viejas, sustituyéndolas por referencias bibliográficas más recientes que tienden a darle actualidad a la publicación.

CARLOS ENRIQUE FERNANDEZ
JEFE DE PROMECAFE

BERTSCH, F. 1987. *Bibliografía de suelos de Costa Rica*. San José, Universidad de Costa Rica.

Las bibliografías se publican todos los días sobre los temas más variados. Las hay de todo tipo. Desde simples listas, desordenadas de citas bibliográficas (que son la mayoría), hasta colecciones bien estructuradas y ordenadas de material bibliográfico de gran utilidad para el usuario.

Esta bibliografía trata un tema muy restringido, pero de gran utilidad para los técnicos costarricenses que se ocupan de los suelos de este país o que en general deben tratar ese tema. Pero también es de utilidad para estudiosos en otros países del área, pues hay muchas cosas que son comunes a varios países. Los suelos de Costa Rica no son tan diferentes de los de los países vecinos. Lo que es más, son similares, tienen orígenes comparables, así que la información es definitivamente útil para mucha gente.

La publicación contiene 2275 citas, que desde un principio fueron organizadas en temas de fertilidad, nutrición mineral, fertilización, física y clasificación. Dentro de cada tema se discriminaron subtemas más específicos.

Ya con esto es suficiente para aprovechar bien este listado de referencias. Pero lo importante verdaderamente es el "índice de materias", pues aquí, a manera de palabras claves, se puede buscar con mucha más precisión el tema específico que a uno le interesa. Por ejemplo, en el caso del café, si uno quiere saber que se ha escrito en lo que respecta a azufre, con facilidad se encuentra con cinco citas sobre este elemento, de trabajos hechos en Costa Rica. Lo que hace muy valioso ese índice es el detalle con el que está hecho, ya que es casi exhaustivo.

Además tiene un índice de autores y una corta nota al principio en la que se hace un análisis general de lo que se ha hecho en Costa Rica en materia de suelos y que puede juzgarse a través, precisamente de las citas contenidas en la bibliografía. Este análisis muestra algunas de las áreas deficitarias que existen en la investigación de los suelos del país y que abren la oportunidad para los futuros investigadores en este campo. Todo el trabajo se hizo con la ayuda de la computación, lo que quiere decir que existe una base de datos que puede ser de gran utilidad para los que se interesen en los suelos de Costa Rica en el futuro.

CARLOS E. FERNANDEZ
PROMECAFE

Notas y Comentarios

Se constata que algunos mamíferos hacen vida social, igual que las abejas

Predecir el curso de la evolución es un asunto riesgoso. Algunos dicen que no es posible. Pero Richard Alexander, del Museo de Zoología de la Universidad de Michigan, al comienzo de los años novecientos setenta, sugirió —basándose puramente en razonamientos teóricos— que podrían haber emergido en la evolución un mamífero verdaderamente social, en un sistema de castas similar al de abejas y avispa. Pocos años después, él mismo descubrió que en realidad tal mamífero existía.

Lo curioso era que Alexander no era un zoólogo especializado en mamíferos sino un entomólogo. Le interesaban especialmente los insectos "eusociales", esos que tienen castas de obreros y de soldados que cooperan en cuidar las crías. Su predicción de un mamífero eusocial se basó en sus estudios de estas comunidades de insectos. Parecía, en ese entonces, que los insectos tenían un monopolio en la "eusocialidad". Los únicos ejemplos conocidos ocurrían en los himenópteros, como avispa, abejas y hormigas, y en los isópteros, entre los que se había presentado una sola vez, ya que todos los termitas son eusociales.

El problema de cómo se originaron estas sociedades de insectos altamente altruistas lo preocupaba bastante. Descartó la explicación de William Hamilton, presentada en 1964, de que esta condición dependía de la genética peculiar de los himenópteros, cuyo sexo es determinado por un sistema conocido como haplodiploidía. Los machos tienen un solo juego de cromosomas (haploides) y las hembras, dos (diploides). Esto quiere decir que las hembras no comparten simplemente la mitad de sus genes sino tres cuartos. Esto, según Alexander, no era suficiente explicación. Las termitas no poseen haplodiploidismo. Y otras especies, con sistemas haplodiploide, como thrips, mosquitas blancas, insectos de escama, no han producido especies eusociales.

El enfoque de Alexander fue hacia la ecología y el comportamiento de los insectos eusociales, tratando de identificar los elementos unificadores más importantes. Si los parientes pueden proteger a las hembras reproductivas, quizás hasta dando sus vidas por defenderlas, la eusocialidad se hace más probable. En segundo lugar, el alimento debe ser abundante para así mantener una alta concentración de individuos en un lugar. También, son necesarios el cuidado maternal por sus crías y una manipulación del grupo por parte de la madre.

Alexander se preguntaba por qué en los vertebrados de sangre caliente —entre los cuales el cuidado de los hijos estaba bien desarrollado— no se habían presentado especies eusociales. En el caso de las aves, el sistema de vida —con sus nidos en sitios abiertos, muy difíciles de defender— hacía imposible una evolución hacia un sistema social. Sin embargo, podrían haber ciertas condiciones en las cuales un mamífero podía evolucionar hacia la eusocialidad. Probablemente, se requerirá de un nido totalmente cerrado, difícil de penetrar, como con los termitas. Los obreros podían así ganar genéticamente, sacrificándose en la defensa de las entradas al nido. Alexander visualizó un mamífero subterráneo, que viviese en un suelo duro. Impenetrable. Trató de idear el ambiente que podría suministrar este nicho ecológico, e imaginó una región árida, con lluvia incierta, sujeta a fuegos de la vegetación arbustiva, la clase de hábitat que favorece la evolución de plantas con grandes reservas subterráneas de alimentos. Su conclusión fue que podría ser un parque abierto o sabana, en algún lugar de los trópicos.

Alexander incorporó su descripción de este mamífero hipotético en una conferencia sobre la evolución de la eusocialidad la cual presentó en varias universidades de Estados Unidos. En 1975, el circuito de conferencias incluyó a North Carolina State University, donde Terry Vaughan, un mamalogista (especialista en mamíferos) estaba en el auditorio; este fue el ini-

cio de un descubrimiento importante en la zoología. Vaughan había pasado un año sabático en Kenya; entre los pequeños mamíferos que había colectado estaba un roedor, conocido como la "rata-topo desnuda" (*Heterocephalus glaber*). Vaughn se dio cuenta, al escuchar la charla, que la descripción de este hipotético mamífero eusocial concordaba exactamente con esta criatura. Llevó a Alexander a su laboratorio y le enseñó los especímenes que había traído de Africa y que tenía preservados en frascos. Eran roedores rosados, desnudos de pelo y de piel arrugada, de sólo nueve centímetros de longitud. La única persona que él sabía que estaba trabajando con este animalito era Jennifer Jarvis, una ecofisióloga en Ciudad del Cabo, quien había descrito las excavaciones hechas en colonias de este animal. Alexander inmediatamente le escribió, preguntándole sobre el sistema social de la criatura.

Su carta llegó en un momento oportuno. El trabajo de campo de Jarvis en Kenya y en el laboratorio de Ciudad del Cabo era frustrante porque nunca había logrado reproducir los animalitos en el laboratorio. Después de muchos intentos, logró muy pocas hembras en celo, de hecho, sólo un animal por colonia. Al recibir la carta de Alexander comenta ahora Jarvis con humor, el significado de sus escasos éxitos con las hembras en celo encontró su significado real. Su intento al tratar de formar colonias era estudiar su fisiología; obviamente, no pasó por su mente establecer paralelos con los insectos sociales. La carta de Alexander inició una fructífera asociación, que involucraba a Alexander y a Jarvis, sino también a Paul Sherman, un mamólogo de la Universidad de Cornell quien en 1970, viajó con Alexander a Kenya para coleccionar ratas-topo desnudas y establecer las primeras colonias en cautiverio en los Estados Unidos.

Jarvis describió sus resultados en 1977, pero, el anuncio más importante lo hizo en 1980, después de capturar una colonia completa. Solo entonces se convenció de que lo que había encontrado en el laboratorio era un reflejo de la manera de vivir de estos roedores en la naturaleza. Las distintas castas, de diferentes tamaños, la división del trabajo, las reservas de guerreros. La hembra fértil, la reina, puede mantener su poder por 13 años. Ella es el supremo animal dentro de la colonia y domina a todos los otros miembros. Hace poco trabajo, aparte de amamantar a sus crías, pero deja su cámara real varias veces al día para patrullar la colonia.

El resto de la colonia no es fértil, a excepción de los machos, uno o dos de los cuales se juntan con la reina. Estos machos de cría son los individuos más grandes pero su período activo es breve; se "queman" en pocos años y son reemplazados por otro macho de la casta no trabajadora. Estos "zánganos" que pasan la mayor parte de su tiempo durmiendo, son importantes como soldados y salen a su defensa en los túneles periféricos mientras los pequeños trabajadores se apilan en las cámaras vecinas dando chillidos de alarma.

Los grandes tubérculos que Alexander predijo como condición favorable a la evolución de esta colonia, se han encontrado ya. Se trata de *Pyrenacantha kausabassana*, una icacínacea; sus tubérculos son verdaderamente colosales, promediando un peso de cinco kilogramos pero llegando hasta 50 kilogramos en algunos lugares, es decir, el peso de unas 1250 ratas-topo.

Estos y muchos otros detalles que se están divulgando, confirman plenamente la predicción de Alexander. Linda Gamlin, periodista y editora científica, de Bath, Inglaterra (1), ha hecho en julio de 1987, una relación mucho más detallada, con fotografías en colores.

Este descubrimiento ha provocado muchas búsquedas de animales ausociales, tanto en insectos como en mamíferos. Parece más promisoría la búsqueda de mamíferos pues ya se ha encontrado otra especie, altamente social, de la misma familia de la rata-topo. Se trata de *Cryptomys damarensis*, cuyas colonias tienen también una sola hembra madre dominante; habitan en el desierto de Kalahari (Africa del Sur) y partes de Namibia.

¿Podrían existir otros mamíferos eusociales fuera de los Bathyergidos? Nadie está todavía preparado para especular, pero Robert Brett ha puesto su atención en los tuco-tucos, *Ctenomys talarum*, del Este de Argentina. El suelo de las pampas es tan duro como el de la sabana de Africa Oriental y el tuco-tuco se alimenta en especial con tubérculos subterráneos. Esto todavía no quiere decir que sea eusocial, pero uno nunca sabe. A. Gorbitz.

Referencia:

1. GAMLIN, LINDA. 1987. Rodents join the commune. *New Scientist* 115(1751):40-47.