

Efeitos da interação de N-NO₃ e NH₄ na atividade da nitrato redutase e acumulação de N-proteico em *Brachiaria* sp.*

MANLIO SILVESTRE FERNANDES**, MAURICIO BALLESTEIRO FERREIR A.***

LUIZ RODRIGUES FREIRE****

A B S T R A C T

An experiment was made in greenhouse to study the effects of the application of N as NO₃ or as NH₄ in different combinations, on the N-uptake and N-metabolism of *Brachiaria* sp. (Tannergrass). The results showed that small amounts of NH₄-N (5 ppm) applied for short periods (24 h) on plant living on NO₃-N, resulted in an increase in the activity of nitrate reductase (NRA) in the leaves of NO₃-fed plants. There was also an increase in the protein-N, and NO₃-N accumulation. Plants receiving N as NH₄NO₃ alone had the lowest NRA and protein-N accumulation both in leaves and sheats. Plants on NH₄-N had the second highest NRA activity, in leaves and first in sheats. This was attributed to the nitrification going on in the non-sterilized sand in the NH₄-N pots. A positive correlation ($r = 0,97$) was found between the NRA and protein-N in the shoots (leaves + sheats). It was also shown that despite the differences in the levels of NRA and protein-N in leaves and sheats of *Brachiaria* (NRA and protein-N) was the same as observed in the levels of dry weight accumulation, and was the inverse of the general trend observed in the amino-N accumulation.

Introdução

ESTUDOS sobre a adaptação e rendimento do capim Braquiaria (*Brachiaria* sp.) vem sendo feitos sistematicamente, nas regiões tropicais (14). Existe também a necessidade de conhecer as respostas dessa gramínea à adubação mineral, e especialmente ao nitrogênio.

Fernandes e Freire (5) demonstraram a existência de uma correlação positiva entre o nitrogênio nítrico (N-NO₃) acumulado na parte aérea, e a atividade de nitrato redutase (NRA) em *Brachiaria* sp. Também foi verificado pelos autores que o teor de N-NO₃ acumulado na parte aérea dessas plantas é proporcional ao teor de nitrato (NO₃) aplicado no solo. Foi observado entretanto, que quando nitrogênio amoniacal

(N-NH₄) era aplicado a um solo que continha NO₃, a absorção de NO₃ pela planta aumentava, e havia um correspondente aumento na NRA (Nossos resultados, não publicados). Eira (3) observou um aumento de NRA (4x) na parte aérea (1/3 superior) de *Digitaria decumbens*, sete dias após a aplicação de 100 ppm de N-NH₄ no solo.

A inibição e repressão do sistema Nitrato Redutase (NR) por NH₃, foi demonstrada por Losada *et al.* (15). Também foi observada a inibição do sistema NR por amidas (11) e por amino ácidos sulfurados (1). É possível entretanto, que um eficiente sistema de compartimentalização nas células possa manter isolado, metabolicamente, os produtos finais da redução de NO₃, do sistema NR propriamente, de modo que os efeitos de inibição e repressão possam ser minimizados. Por outro lado, desde que a formação do sistema NR depende de síntese *de novo* de proteínas (8), um aporte de formas reduzidas de N pode aumentar indiretamente a capacidade da planta de absorver e assimilar o N-NO₃ (2). Estes efeitos deverão então ser refletidos no teor de N-proteico, e na atividade de NR das plantas. A adubação de pastagens de *Brachiaria* sp. com

* Recebido para publicação em 19 de julho de 1978

** Professor Adjunto do Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Antiga Estr. Rio-São Paulo, Km 47; Via Campo Grande-ZC-26 CEP. 23.460, Rio de Janeiro, Brasil.

*** Auxiliar de Ensino do Instituto de Biologia da UFRRJ

**** Professor Assistente do Departamento de Solos da UFRRJ

N-NH₄ ou com adubos orgânicos (12) pode produzir condições que forneçam quantidades variáveis de NO₃ e NH₄ na rizosfera das plantas, e esta interação pode afetar o metabolismo de N nessas plantas.

Estas considerações levaram-nos a realizar esta investigação sobre os efeitos da interação entre diferentes formas e concentrações de N em solução nutritiva, no metabolismo de N em *Brachyaria sp.*

Material e métodos

O experimento foi executado em casa de vegetação, em outubro e novembro de 1975. Estacas de *Brachyaria sp.*, foram transplantadas (7 por vaso) em potes contendo 4 kg de areia lavada de rio, (areia 97,8%; silte 1,6% e argila 0,6%). A areia foi exaustivamente lavada em água destilada, não tendo sido entretanto esterilizada, nem submetida a qualquer tratamento visando impedir ou reduzir a ação de agentes nitrificadores por ventura presentes. Nos vasos com areia (4 kg) foi aplicada a seguinte solução nutritiva básica:

Sal	concentração	ml/l
KH ₂ PO ₄	M	2,00
K ₂ SO ₄	M	0,51
Ca (NO ₃) ₂	M	0,71
MgSO ₄	M	2,00

Micronutrientes foram aplicados de acordo com as concentrações recomendadas por Hoagland e Arnon (10) e ferro foi aplicado como citrato de ferro, a partir de uma solução de 1.000 ppm, na base de 1ml/l (pH inicial da solução, 6,0).

Os vasos foram revestidos com papel de alumínio, e o nível da solução nutritiva controlado por meio de um tubo de vidro em forma de L, com a extremidade protegida por malha fina, e inserido na base do vaso. As soluções eram trocadas cada 3 dias.

Quando as plantas atingiram um tamanho médio de 30 cm (parte aérea) foram desbastadas para 5 por vaso, cortadas, e as plantas obtidas após a rebrota foram usadas neste experimento.

Para os tratamentos, foram usadas as mesmas soluções nutritivas básicas, excepto por nitrogênio, que foi usado em 20 ppm, mas nas seguintes combinações:

Tratamento I — 20 ppm de N como NO₃
por 21 dias.

Tratamento II — 20 ppm de N como NH₄NO₃
por 21 dias

Tratamento III — 20 ppm de N como NH₄
por 21 dias.

Tratamento IV (a) — 15 ppm de N como NO₃
+ 5 ppm de N como NH₄ por 2 dias

(b) — 20 ppm de N como NO₃ por 5 dias

(c) — 15 ppm de N como NO₃ + 5 ppm de
N como NH₄ por 2 dias.

(d) — 20 ppm de N como NO₃ por 6 dias.

Foram usados Ca(NO₃)₂ e (NH₄)₂ SO₄ como fontes de N para os tratamentos I, III e IV, e NH₄ NO₃ para o tratamento II

As plantas dos tratamentos I, II e III, receberam N na forma indicada, pelo período total de 21 dias. As plantas do tratamento IV, receberam N nas formas, combinações e períodos indicados, e, seguidamente.

Após este período (21 dias), a atividade da nitrato redutase (NRA) foi medida separadamente em folhas e bainhas colhidas no terço médio das plantas. As extremidades das folhas foram desprezadas. A colheita e preparação do material para determinação de NRA seguiu o mesmo esquema descrito anteriormente por Fernandes e Freire (5). A incubação do material verde, e a determinação de nitrito, foram feitos segundo o método de Jaworski (13).

Um grama cada, de folhas e bainhas (peso fresco), foram homogeneizadas em etanol a 80%, em homogeneizador LE-402 (LABOR MIN) e o extrato separado em fases, como descrito por Fernandes (4). Amino-N livre foi determinado por colorimetria pelo método de Yemm e Cocking (16).

O resíduo da extração foi seco em estufa de circulação de ar, a 60°C, e o N-protéico determinado pelo método de micro-Kjeldahl.

O restante do material verde (parte aérea total) foi seco em estufa a 60° e homogeneizado em um moinho Wiley (40 mesh). Em 0,5g deste material seco o nitrato foi extraído com água em ebulição, e determinado pelo método de arraste de vapor, após redução com liga de Devarda.

A atividade da nitrato redutase (NRA) o peso seco, o nitrogênio protéico e os teores de N-amino e N-NO₃ foram usados para estudar a resposta das plantas aos tratamentos.

Foi usado o delineamento estatístico de blocos ao acaso, com 3 repetições, e todas as determinações foram feitas em duplicado.

Resultados e discussão

O efeito dos quatro tratamentos na NRA de folhas e bainhas de *Brachyaria sp.*, pode ser visto na Tabela 1. O efeito de "choques" de NH₄ (5 ppm) em plantas que vinham recebendo N como NO₃ (20 ppm) no aumento de NRA das folhas é bem acentuado, enquanto que o mesmo não se verifica com as bainhas. As plantas submetidas ao tratamento II (NH₄NO₃) mostram uma tendência, muito acentuada nas bainhas, de redução de NRA enquanto que as plantas em NH₄ -N (tratamento III) mostram

Tabela 1.—Atividade de Nitrato Redutase expressa em micromoles de NO_2/g peso fresco/hora, em folhas e bainhas de *Brachiaria sp.*, submetidas a diferentes combinações de N na solução nutritiva.

Tratamento	Folha	Bainha	Folha + Bainha	Relação Bainha-Folha
I	0,18	0,17	0,175	0,94
II	0,17	0,00	0,090	—
III	0,51	0,27	0,390	0,53
IV	1,33	0,15	0,740	0,11
d.m.s. (0,05)	0,33	0,15	0,16	—

uma tendência para o aumento de NRA em relação ao tratamento I, em folhas e bainhas. Enquanto a NRA foi praticamente idêntica em folhas e bainhas do tratamento I (N-NO_3) observa-se uma acentuada redução de relação bainha/folha para NRA, nos outros tratamentos. Os valores encontrados para a relação bainha-folha (Tabela 1) no tratamento 1, desde experimento são semelhantes os encontrados por Fernandes e Freire (5) quando aplicaram 80 ppm de N-NO_3 no solo. As Tabelas 1 e 3, mostram que o teor de N-protéico encontrado nas folhas aumenta com o aumento da NRA ($r = 0,84$). Nas bainhas, ocorre um aumento significativo no teor de N-protéico dos tratamentos III e IV em relação ao tratamento II, e do tratamento IV em relação aos dois primeiros. Estes resultados parecem indicar um deslocamento de N-reduzido das folhas para as bainhas.

Tabela 2.—Teores de amino-N livre, expressas em micromoles/g de peso fresco, em folhas e bainhas de *Brachiaria sp.*, submetidas a diferentes combinações de N na solução nutritiva.

Tratamento	Folhas	Bainhas	Folhas + Bainhas
I	19,0	15,3	17,2
II	13,0	28,3	20,6
III	14,0	21,3	17,8
IV	16,2	11,3	13,8
d.m.s. (0,05)	NS	8,6	NS

Observa-se uma correlação significativa ($r = 0,97$) entre a NRA e teor de N-protéico de folhas + bainhas dos 4 tratamentos. Entretanto, foi observado por outros (5) que os níveis de NRA de folhas e bainhas em *Brachiaria sp.*, podem variar bastante com o teor de NO_3 aplicado no solo, tendo observado estes autores, que a NRA das bainhas atinge o mesmo nível das folhas quando o teor de NO_3 aplicado no solo é elevado.

Não se observam diferenças significativas no teor de Amino-N livre das folhas, nos 4 tratamentos: (Tabela 2). Nas bainhas, ocorre um aumento significativo de amino-N livre nos tratamentos II e III; este resultado, entretanto, pode ser devido à presença de NH_4 na solução nutritiva, o que pode ter resultado num aumento de amidas, como foi observado em arroz (6). É interessante notar, que o nível mais alto de amino-N livre encontrado (bainha, tratamento II) corresponde ao teor mais baixo de NRA. As variações pequenas observadas no teor de amino-N livre, indicam que a absorção de NH_4 não foi muito acentuada nos tratamentos com N-NH_4 (II e III). Em arroz, foi observado que NH_4 pode ser absorvido em pequena quantidade, mesmo a partir de altas concentrações na solução nutritiva, desde que a combinação de luz e temperatura seja desfavorável (4).

O tratamento IV foi o único que resultou num aumento significativo de N-NO_3 na parte aérea (Tabela 4). O tratamento I apresentou os níveis mais baixos de acumulação de N-NO_3 .

Apesar de não terem sido detectadas diferenças significativas para o peso da parte aérea (Tabela 4), entre os tratamentos, observa-se a mesma tendência apresentada para NRA e N-protéico de folhas + bainhas.

Embora amônio (NH_4) possa produzir uma redução na atividade do sistema NRA em sistemas isolados (9), o efeito parece não ser idêntico quando se observa a ação de NH_4 em plantas inteiras. O efeito

Tabela 3.—Teores de N-protéico, expressos em por cento de peso seco, em folhas e bainhas de *Brachiaria sp.*, submetidas a diferentes combinações de N na solução nutritiva.

Tratamento	Folhas	Bainhas	Folhas + Bainhas
I	1,72	0,51	1,11
II	1,33	0,38	0,94
III	1,90	0,58	1,17
IV	2,14	0,69	1,42
d.m.s. (0,05)	0,41	0,14	0,31

Tabela 4.—Peso seco, e N-NO₃ na parte aérea de *Brachiaria sp.*, submetida a diferentes combinações de N na solução nutritiva.

Tratamento	Peso Seco em gramas	N-NO ₃ em μ moles/g de peso seco
I	2,07	23,25
II	1,56	31,80
III	1,85	31,11
IV	2,24	41,25
d m s (0,05)	NS	10,30

marcante de pequenas doses de amonio no nível de NRA parece indicar que a pequena adição de N em forma reduzida pode ter acelerado a síntese de compostos orgânicos, inclusive proteínas e a consequência dessa maior atividade metabólica tenha tido seus reflexos na absorção mais rápida de NO₃. Este efeito, poderia explicar a maior atividade do sistema NRA, pois, como foi demonstrado por Zielker e Filner (17), quando a velocidade de absorção de NO₃ é reduzida, o nível de atividade de enzima também é reduzido, a despeito dos níveis altos de NO₃ (25 μ moles/g peso fresco) nos tecidos.

A NRA e os níveis de N-NO₃ nas plantas do tratamento III (NH₄-N) parecem indicar a ocorrência de nitrificação, nas condições deste experimento. Deve-se também ter em mente, que durante o período de crescimento, (antes dos tratamentos) todas as plantas foram submetidas a 20 ppm de N-NO₃. Parte do NO₃ encontrado na parte aérea das plantas do tratamento III pode ter sido absorvido durante este período inicial e acumulado no "pool substrato". O nitrato resultante da nitrificação ocorrida no período do tratamento III (NO₃ no "pool" metabólico) seria então responsável pela indução da nitrato redutase. É interessante notar que maior nível de NRA foi verificado em plantas sob essas condições experimentais em relação às plantas mantidas exclusivamente em N-NO₃ (tratamento I).

É possível também que uma menor disponibilidade de NO₃ no tratamento II tenha contribuído para que NH₄NO₃ seja a forma menos eficiente de suprir as plantas com N, no que se refere aos seus efeitos no peso seco, NRA e N-protéico nas condições experimentais usadas. A despeito disso, os níveis de N-NO₃ deste tratamento (II) foram ainda superiores aos das plantas sob NO₃ aplicado continuamente, e iguais às quantidades de N-NO₃ em plantas cultivadas em solução de NH₄ (III). Não foi observada neste experimento a correlação entre N-NO₃ na parte aérea e o teor de peso seco, reportado por Fernandes e Freire (5) para plantas que receberam N-NO₃ no solo. Tam-

bém houve, nas condições deste experimento uma correlação positiva entre o NRA e o teor de protéico, o que não foi encontrado nas condições do experimento anterior (5).

O período de duração dos tratamentos (21 dias no total, e 6 dias após cada "choque" de NH₄ no tratamento IV) exclui a possibilidade de que os fenômenos observados sejam expressão de um distúrbio momentâneo de metabolismo devido a trocas bruscas das fontes de N, visto que o nível de NRA e o acúmulo de N-NO₃ e N-protéico foram observados 6 dias após a última modificação na fonte de N (NH₄, NO₃ tratamento IV) enquanto que no tratamento III o meio era estável.

A absorção mais rápida de NH₄ do que de NO₃ observado para algumas gramíneas e a inibição produzida por NH₄ na absorção de NO₃, (7) pode também ser um fator a contribuir para explicar alguns aspectos dos fenômenos observados.

É interessante observar que embora os níveis de NRA e N-protéico tenham sido diferentes para folhas e bainhas (Tabelas 1 e 3), quando se toma a atividade do conjunto (folhas + bainhas) os dados obtidos mostram a mesma tendência ($r = 0,97$), com os valores observados atingindo um mínimo no tratamento II. O peso seco da parte aérea (Tabela 4) por outro lado, mostra a mesma tendência (não significativa ao nível de 0,05). Estes resultados indicam que os efeitos produzidos pelos 4 tratamentos na NRA das folhas de *Brachiaria sp.*, foram determinantes na acumulação de N-protéico e de peso seco da parte aérea. Tendência inversa a esta ordem de valores foi observada no que se refere ao acúmulo de amino-N na parte aérea das plantas estudadas. Embora os resultados não sejam estatisticamente significantes, os maiores acúmulos de amino-N, correspondem respectivamente aos menores e maiores níveis de NRA e N-protéico (Tabelas 1, 2 e 3).

Conclusão

Os resultados obtidos neste experimento, mostram o efeito positivo de pequenas doses de NH₄, na NRA, na absorção de NO₃, e na acumulação de N-protéico, em plantas crescendo em condições onde NO₃ é forma dominante de N. É possível também a partir dos resultados obtidos, sugerir que o aparecimento de pequenas quantidades de NO₃ em um meio contendo predominantemente NH₄, também tenha um efeito positivo nos parâmetros acima. Estas condições podem existir no solo, logo após uma adubação com uma fonte de N-NH₄, ou nas condições existentes em áreas de pastoreio muito intensivo. Por outro lado, a aplicação de quantidades iguais de NH₄ e NO₃ em maior concentração (20 ppm), foi menos eficiente, no que se refere aos parâmetros observados. Os resultados obtidos confirmam as observações preliminares (Nossos resultados não publicados; e 3), e podem ser explicados como sendo o resultado de ação posi-

tiva de uma fonte de N-reduzido no metabolismo em geral, e conseqüentemente na síntese de proteínas das plantas estudadas.

Resumo

Foi realizado um experimento, em casa de vegetação, para estudar o efeito da interação de NO_3 e NH_4 aplicados na solução nutritiva, na absorção e metabolismo de N em *Brachiaria sp*. Os resultados mostram que pequenas quantidades de N- NH_4 (5 ppm) aplicados por curto período de tempo (24 horas) em plantas originalmente recebendo N- NO_3 (20 ppm) aumentam a atividade da nitrato redutase (NRA) nas folhas das plantas, verificando-se também um aumento na acumulação de N-proteico em folhas e bainhas. Plantas recebendo NH_4NO_3 continuamente exibiram o mais baixo nível de NRA, e o menor teor de N-proteico em folhas e bainhas. Aplicação de N como NH_4 continuamente, foi o segundo melhor tratamento no que se refere a NRA. Atribuiu-se este resultado, à nitrificação que teria ocorrido nos vasos com areia não esterilizada. Foi observada uma correlação positiva ($r = 0,97$) entre NRA e acumulação de N-proteico no conjunto folhas + bainhas. A tendência observada nos valores de NRA N-proteico em folhas e bainhas, e no peso seco da parte aérea, mostram que a NRA das folhas foi o fator dominante dos níveis de acumulação da proteína e peso seco da parte aérea das plantas estudadas.

Literatura citada

- 1 AFRIDI, M M R, K e HEWITT, E. J. Induction and stability of nitrate reductase in tissue of higher plants. *Life Sciences* 1: 287-295. 1962
- 2 BEEVERS, L. e HAGEMAN, R. H. Nitrate reduction in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* 20: 495-522. 1969
- 3 EIRA, P. A. Transformações de nitrogênio em solo sob vegetação de *Digitaria decumbens*. Tese de M. S., UFRRJ 1977.
- 4 FERNANDES, M. S. Effects of light and temperature on the nitrogen metabolism of tropical rice. Ph.D. Thesis Michigan State University, 1974.
- 5 ————— e FREIRE, I. R. Efeitos de nitrogênio nítrico aplicado no solo, na atividade de nitrato-redutase e na acumulação de N-solúvel em *Brachiaria sp*. *Turrialba* 26 (3): 268-273 1976
- 6 FERNANDES, M. S. Interação entre N-amoniaco e energia ambiental, na nutrição nitrogenada do arroz. Anais do XV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. 1976. pp. 229-233.
- 7 FRIED, M., ZSOLDOS, F., VOSE, P. E. e SHATOK-HIN, T. I. Characterizing the NO_3 and NH_4 uptake process of rice roots by use of N labelled NH_4NO_3 . *Physiologia Plantarum* 18: 313-320. 1965
- 8 HEIMER, J. M. e FILNER, P. Regulation of nitrate assimilation pathway in cultured tobacco cells. III. The nitrate uptake system. *Biochimica Acta* 230: 362-372. 1971.
- 9 HERRERA, J., PANEQUE, A., MALDONADO, MARIA I., BAREA, J. I., e LOSADA, M. Regulation by Ammonia of nitrate reductase synthesis and activity in *Cblamydomonus reinhardi*. *Biochemical Biophysical Research Communications*. 48: 996-1003. 1972.
- 10 HOAGLAND, D. R., e ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station. Circular 347 (Revised). 1950.
- 11 INGLE I., JOY, K. W., e HAGEMAN, R. H. The regulation of activity of the enzymes involved in the assimilation of nitrate by higher plants. *Biochemical Journal* 100: 577-588. 1966.
- 12 IPEAN (Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuária do Norte) Capim Braquiaria. Belém-PA 1966
- 13 JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochemical Biophysical Research Communications* 43(6): 1274-1279 1971
- 14 LIMA, C. R., SOUTO, S. M. e de LUCAS, E. D. Valor nutritivo dos feno de *Brachiaria brizantha* (signalgrass), *Brachiaria purpurascens* (Capim angola) e *Brachiaria sp* (Tannergrass). *Pesquisa Agropecuária Brasileira Serie Zootecnia* 10: 1-5 1975
- 15 LOSADA, M., PANEQUE, A., APARICIO, P. I., VEGA, MARIA I., CÁRDENAS, I., e HERRERA, J. Inactivation and repression by ammonium of the nitrate reducing system in *Chlorella*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 38: 1009-1015 1970.
- 16 YEMM, E. W. e COCKING, E. C. The determination of amino acid with ninhydrin. *Analyst*. 80: 209-213 1955.
- 17 ZIEIKER, H. R., e FILNER, P. Synthesis and turnover of nitrate reductase induced by nitrate in cultured tobacco cells. *Journal of Biological Chemistry*. 246: 1172-1179 1971.

Notas y Comentarios

Los japoneses engañan por fin al gusano de seda

La producción de seda está severamente limitada por el conservadurismo alimenticio de los gusanos de seda. Las hojas de la morera son su alimento natural y todos los esfuerzos de los fabricantes japoneses de seda no consiguen que los gusanos de seda coman dietas artificiales si no contienen de 10 a 40 por ciento de hojas de morera. Pero las plantaciones de morera son caras, y lo es también el almacenaje del material foliar, que se encuentra disponible en estado fresco solo por un período limitado en el año. Todo esto ha estimulado el desarrollo del cultivo de células de tejidos de morera para la alimentación del gusano de seda, lo que ha sido ahora conseguido con éxito por Yasuyuki Yamada y Asao Okamoto del Departamento de Química Agrícola en la Universidad de Kyoto (*Agricultural and Biological Chemistry*, vol. 41, p. 2261).

Yamada y Okamoto probaron sistemáticamente todas las variables posibles que podrían afectar el crecimiento en un medio de cultivo de las células de morera y encontraron que esas ideales condiciones eran pH neutral, 30° C, en un medio que contenía sacarosa como fuente de carbono, nitratos y amoníaco como fuentes de nitrógeno, y dos clases de hormonas vegetales, auxinas y cinetina. Probaron entonces la capacidad de las células de morera, cultivadas en esa forma, para reemplazar las hojas de morera picadas como base de la alimentación del gusano de seda industrial.

Sin ningún componente de morera, los gusanos eran menos capaces de tejer capullos y estos capullos eran de un peso promedio menor. Pero las células de morera cultivadas artificialmente constituyeron un sustituto perfectamente satisfactorio de las hojas de morera, siempre y cuando las células hubiesen sido cultivadas bajo luz. Las células cultivadas en la oscuridad eran incoloras, mientras que las cultivadas bajo luz eran ligeramente verdes, y los gusanos tenían una clara preferencia por estas células verdes, aun cuando su contenido de clorofila era sólo 1 por ciento del de las hojas naturales de morera.

Yamada y Okamoto no analizan el costo de su dieta artificial. Han establecido que las células de cultivo son satisfactorias como un componente de la ración y que han contribuido a rendimientos altos de buena seda. Afirman, sin embargo, que esto reducirá los costos de crianza al ahorrarse el mantenimiento de las plantaciones de morera y el costo de la cosecha de las hojas.

La familiaridad origina un hato vacuno tolerante

Es muy fácil pensar que las vacas blanco y negro que cubren parte de nuestros pastizales son parte del paisaje, pero son animales que, aunque parezcan inactivos hasta el aburrimiento exhiben marcos complejos de conducta. Estos marcos tienen a menudo sus raíces evolucionarias en los hatos salvajes de bovinos de los que emergieron las vacas domésticas. Marie France Bousson y Sylvie Andrieu de la Station de Physiologie de la Reproduction del INRA, en Francia han publicado recientemente los resultados de un estudio a largo plazo del desarrollo de vínculos sociales entre un grupo de vaquillas Friesian (*Behaviour* vol. 64, p. 148).

Bousson y Andrieu criaron grupos de vaquillas en dos situaciones. En una de estas los animales vivían juntos en grupos desde el nacimiento, y fueron después mezclados en un rebaño. En otra, los animales se criaron aparte hasta la edad de 6 o 12 meses, y fueron entonces juntados en pequeños grupos, que eventualmente se fusionaron para formar un rebaño. Encontraron, no sorprendentemente, que en el hato final había menos interacción agresiva entre miembros del mismo grupo que entre aquellos de diferentes grupos de crianza.

Sin embargo aquí terminaron las generalizaciones. Dentro de los grupos criados juntos desde el nacimiento, había mucho menos conflictos en total que en aquellos grupos que fueron formados a los 6 o 12 meses de edad. Similarmente, en los grupos criados juntos desde el nacimiento, los "relations préférentielles" fueron comunes. En otras palabras, las vacas formaron afinidades con individuos en el grupo a quienes buscaron y con quienes preferían estar. Esto no pasó en los grupos que se conocieron primero a los 6 o 12 meses. En lo que se refiere al alimento, que en cualquier animal es un asunto atractivo, la competencia en el comedero fue tolerada entre animales criados juntos pero no entre aquellos criados en grupos distintos.

Todo esto conduce a un "período sensitivo" en la maduración de una vaca, el período en que encuentra quiénes son sus amigos; este período cae en algún momento entre el nacimiento y los seis meses de edad. Los biólogos están ahora completamente familiarizados con el tipo de "impresión" que a menudo muestran las aves; la bien conocida figura de Konrad Lorenz seguido de sus "gansos-niños" lo dice todo. Pero este tipo de período sensitivo está hecho a medida para una relación distinta a la de un pichón con su madre, esto es, la formación de un rebaño.

Este mecanismo de comportamiento podría asegurar que los terneros acepten como "familias" a aquellos con quienes interaccionan en los primeros pocos meses de vida. Se juntan entre ellos, y llegan a acuerdos amigables en lo que se refiere a los alimentos. Aquellos que encuentran más tarde es probable que no sean de la familia, de tal manera que no reciben un trato privilegiado. Una vez pasados los seis meses el período sensitivo se acaba, y cada uno se ayuda a sí mismo.