

# TURRIALBA

REVISTA INTERAMERICANA DE CIENCIAS AGRICOLAS

VOLUMEN 27

TRIMESTRE OCTUBRE-DICIEMBRE 1977

NUMERO 4

CODEN: TURRAB 27(4)317-430

<i>Las malezas y su control en el cultivo de yuca en Colombia (en español),</i> Rafael O. Díaz, Per Pinstруп Andersen, Jerry Doll	319
<i>Algunos factores que afectan el contenido de grasa en semillas de cacao</i> (Theobroma cacao L.) con énfasis en el efecto de las plantas polinizadoras (en inglés), M. A. Beek, A. B. Eskes, H. Toxopeus	327
<i>Efecto del encajado sobre las cargas eléctricas y otras propiedades químicas</i> de tres inceptisoles de Costa Rica (en español), A. M. de Almeida, E. Bornemisza	333
<i>Purificación, serología, microscopia electrónica y otras propiedades de la</i> cepa Ampollado, del virus Mosaico Rugoso del Frijol (en inglés), Guillermo E. Gálvez E, Moisés Cárdenas A, Elliot W. Kitajima, Antonio J. Díaz Ch, María P. Nieto C	343
<i>Estudio sobre la resistencia química del café a la mancha mantecosa causada</i> por Colletotrichum spp. 1 - Actividad fungistática de metabolitos pre- sentes en el tejido laminar y capa de cera de hojas (en español), Edgar Vargas C.	351
<i>Estudios fisiológicos sobre la floración del café en condiciones del Sur de la</i> India. VII Cambios en las enzimas de hierro y cobre y en el ácido ascórbico durante las etapas del desarrollo de la yema floral y la antesis (en inglés), N. Vasudeva, N. H. Gopal	355
<i>Utilización de la gallinaza en la alimentación de bovinos 1 Disponibilidad,</i> composición química y digestibilidad de la gallinaza en Costa Rica (en español), M. E. Ruiz, A. Ruiz	361
<i>Evaluación de la cáscara del cacao en las raciones de engorde para pollos</i> de carne (en inglés), S. A. Adeyanju, D. B. A. Ogutuga, E. B. Sonaiya, N. Eshiett	371
<i>Variaciones en los ácidos grasos libres y triglicéridos en el floema del Pinus</i> taeda inoculados con Ceratocystis minor (en inglés) Edgar W. Clark, James A. Richmond	377
<i>Evaluación nutricional, en cerdos de la pulpa de café sometida a varios pro-</i> cesos de almacenamiento (en español), Roberto Jarquin, Ricardo Bressani	385
<i>El uso de envases de Styroblock para producir plántulas de Pinus caribaea</i> var. hondurensis Barr & Golf en el vivero (en inglés) C. R. Venator, Alberto Rodríguez	393
<i>Características pedológicas y utilización de algunos suelos halomórficos de</i> los Bajos Submeridionales, Argentina (en español), Héctor J. M. Morrás, Silvia Perman	397
<i>Estudios sobre la herencia cuantitativa en el caféo</i> 1 El número de flores por inflorescencia en un cruce de Coffea canephora x C. arabica (en inglés), S. Vishveshwara, C. S. Srinivasan	405
<i>Análisis de la función de producción del agua de irrigación y nitrógeno,</i> en la producción de arroz en zonas pantanosas (en inglés), M. R. Iruthayaraj, Y. B. Morachan	411
<i>Tipos de raíces y capacidad de absorción de fósforo en caña planta</i> (Saccharum sp.) (en español), M. E. Resnik, S. G. de Palomar, H. Martínez, J. A. Rodríguez Rey	415
Comunicaciones:	
<i>Cambios en el cociente respiratorio en los embriones de Coffea canephora</i> 'S. 274' (en inglés), G. Sudhakara Rao, D. Venkataramanan, K. N. Rao	419
<i>Estudio del potencial del sorgo (Sorghum bicolor) granífero bajo condiciones</i> del medio Sao Francisco (en portugués), Paulo A. A. Aguiar	420
<i>Algunos insectos patógenos naturales en Colombia (en inglés), F. Agudelo,</i> L. A. Falcón	423
<i>Las relaciones de variables climáticas y bióticas con la dinámica de poblaciones</i> de Forcipomyia spp. (Diptera, Ceratopogonidae) y la polinización del cacaotero en Bahía, Brasil (en español), Saulo de J. Soria	424
<i>Notas sobre la morfología, la anatomía de la testa y la fisiología de las</i> semillas de Enterolobium cyclocarpum (en español), Carlos Vázquez- Yanes	427
Reseñas de Libros	584, 591, 392, 403, 404, 409, 410, 414
Notas y Comentarios	339, 360, 369, 370, 376, 383



INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA

San José, Costa Rica

CR ISSN 0041 - 4360

# Las malezas y su control en el cultivo de yuca en Colombia\*

RAFAEL O. DIAZ\*\*, PER PINSTRUP-ANDERSEN\*\*\*, JERRY DOLL\*\*\*\*

## ABSTRACT

*A survey analysis was carried out by a team of agricultural economists and agronomists on nearly 300 Colombian cassava farms. Five cassava growing regions were selected and data on the weed species, weed densities and common weeding practices were collected in three farm visits conducted during the entire growing season.*

*Broadleaf weeds were the most common in all regions, accounting for 62 to 65 per cent of all the weed species. There was a shift to slightly more grasses and sedges as the cassava grew older. Surprisingly Pteridium aquilinum was the most common weed and Bidens pilosa and Cyperus rotundus were other serious problems. Significant variations existed from one region to another as to the most frequently encountered species; however, several of the weeds were common to many regions. The weeds with the highest plant populations did not coincide very closely with the most frequently encountered species. Most of the annual grasses, sedges and broadleaf weeds found are susceptible to the currently recommended herbicides but further research is needed on several perennial grasses, P. aquilinum and Sida spp.*

*Nearly all weeding in cassava is performed manually. Chemical control was used by only three per cent of the farmers sampled. The average number of weedings was 3.3 per crop. Weeding accounted for 50 per cent of the total labor requirements in cassava production and more than one-third of the total costs. Farmers stated they do not apply herbicides due to: 1) relative costs of herbicides and labor, 2) lack of information, 3) lack of capital, 4) unavailability of the right kind of herbicides and 5) limited availability of herbicides in reasonably small containers.*

*The usefulness of an agro-economic survey to identify problems in the field is demonstrated. Research programs can now be reviewed to solve the newly found problems.*

## Introducción

**E**L CONTROL de malezas constituye uno de los mayores costos en la producción de numerosos cultivos en los trópicos, incluyendo la yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Además, los métodos ineficaces de control pueden causar pérdidas en rendimiento y producción en estos cultivos.

Se dispone de poca información sobre los tipos y especies de malezas más frecuentes en cultivos de yuca en una región determinada, su impacto relativo sobre los costos y rendimientos del cultivo y las prácticas de control utilizadas por los agricultores.

El objetivo del estudio fue el de coleccionar la información básica referente a los problemas con malezas en el cultivo de la yuca en Colombia, con el fin de sentar las bases de la investigación futura del control de malezas en este cultivo.

## Metodología

Se escogieron cinco regiones representativas en las cuales se cultiva yuca bajo diferentes condiciones ecológicas (Cuadro 1). La información básica fue colec-

\* Recibido para publicación 25 de noviembre de 1976.  
\*\* Economista Agrícola, Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT, Apartado Aéreo 67-13, Cali, Colombia.  
\*\*\* Economista Agrícola, Director "Agro-Economic International Fertilizer Development Center", Florence, Alabama, 35630 U.S.A.  
\*\*\*\* Especialista en control de malezas, Profesor University of Wisconsin, Department of Agronomy, Madison, Wisconsin-53706 U.S.A.

tada por un equipo de agrónomos y economistas agrícolas previamente adiestrados, el cual realizó tres visitas a cada uno de los 283 cultivadores en tres épocas del ciclo de cultivo: primera visita, menos de cuatro meses de edad; segunda visita, entre los cuatro y ocho meses; tercera visita, entre los ocho y doce meses.

Con base en las observaciones directas y en los conteos hechos en áreas de 0,5 m<sup>2</sup>, se determinaron los tipos, las especies y la población de las malezas que se encuentran en los cultivos de yuca en Colombia.

### Resultados y discusión

#### Frecuencia de las malezas

Las malezas de hoja ancha predominaron en todas las regiones, independiente de la edad del cultivo (Cuadro 2). La frecuencia de este tipo de maleza osciló entre el 62 y 65 por ciento para el total de cultivadores.

Las malezas de hoja angosta y ciperáceas se presentaron con menos frecuencia (25-28 y 3-10%, respectivamente). A medida que aumentó la edad del cultivo se observó una ligera tendencia a que disminuyeran las malezas de hoja ancha y ciperáceas, y aumentaron en las de hoja angosta.

Los datos de frecuencia por tipo de malezas observadas en el campo son muy similares a los reportados por Cárdenas *et al* (1). Entre las 150 especies de malezas presentadas en su manual de identificación, el 72 por ciento corresponde a malezas de hoja ancha, el 23 por ciento a malezas de hoja angosta y el 6 por ciento a ciperáceas. Aunque sólo puede ser una coinci-

Cuadro 1 Tamaño de la muestra de cultivadores de yuca, altitud y promedio de temperatura de las regiones estudiadas.

Región	Departamento	Nº de cultivadores	Altitud promedio (m)	Temperatura promedio (°C)
I	Cauca	61	1230	22
II	Valle y Quindío	61	1200	22
III	Tolima	59	815	26
IV	Meta	55	370	27
V	Atlántico y Magdalena	44	30	30
	Total	283		

dencia, es interesante anotar que los estimativos del nivel de importancia de los diferentes tipos de malezas encontrados en los cultivos de yuca son muy similares a los determinados por los científicos que han realizado investigaciones sobre malezas.

Los datos se analizaron para determinar las principales especies de malezas encontradas en los cultivos visitados. En los Cuadros 3 y 4 se presentan las diez especies de malezas más frecuentemente encontradas por visita y por región respectivamente, clasificadas en orden de importancia con base en el porcentaje de cultivos de yuca donde se encontraron.

A pesar de que la especie *Pteridium aquilinum* no se ha considerado como una maleza de cultivos, fue

Cuadro 2 Porcentaje de malezas de hoja angosta, hoja ancha, ciperáceas y helechos en las cinco regiones productoras de yuca durante las tres visitas.

Tipo de maleza	Porcentaje					Promedio
	Región 1	Región 2	Región 3	Región 4	Región 5	
Primera visita						
Angosta	27.1	27.5	15.7	23.3	32.4	25.4
Ancha	62.1	57.5	78.1	60.5	58.8	62.9
Ciperáceas	8.3	12.5	3.1	14.0	8.0	9.7
Helechos	2.1	2.5	3.1	2.3	0	2.0
Segunda visita						
Angosta	20.9	26.2	24.2	27.5	37.2	28.4
Ancha	74.5	59.5	69.0	57.5	51.2	63.8
Ciperáceas	2.3	11.9	3.4	12.5	11.6	6.2
Helechos	2.3	2.4	3.4	2.5	0	1.6
Tercera visita						
Angosta	20.6	30.8	29.4	33.3	27.8	27.9
Ancha	75.9	61.6	64.7	61.9	63.8	65.9
Ciperáceas	0	3.8	0	0	8.4	3.1
Helechos	3.5	3.8	5.9	4.3	0	3.1

Cuadro 3 Orden de importancia de las diez malezas más frecuentemente encontradas en los cultivos de yuca durante las tres visitas

Orden	Primera visita (0 a 4 meses)		Segunda visita (4 a 8 meses)		Tercera visita (8 a 12 meses)	
	Monocotiledónea	Dicotiledónea	Monocotiledónea	Dicotiledónea	Monocotiledónea	Dicotiledónea
1	<i>Pteridium aquilinum</i> <sup>1/</sup>		<i>Pteridium aquilinum</i>			<i>Eidens pilosa</i>
2	<i>Commelina diffusa</i>			<i>Bidens pilosa</i>	<i>Pteridium aquilinum</i>	
3		<i>Sida acuta</i>	<i>Melinis minutiflora</i>		<i>Melinis minutiflora</i>	
4		<i>Bidens pilosa</i>	<i>Commelina diffusa</i>		<i>Andropogon bicornis</i>	
5	<i>Melinis minutiflora</i>			<i>Ageratum conyzoides</i>	<i>Digitaria sanguinalis</i>	
6		<i>Richardia scabra</i>		<i>Sida acuta</i>	<i>Commelina diffusa</i>	
7	<i>Cyperus rotundus</i>			<i>Stachytarpheta cayennensis</i>		<i>Ageratum conyzoides</i>
8		<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Digitaria sanguinalis</i>			<i>Stachytarpheta cayennensis</i>
9		<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	<i>Cyperus ferax</i>		<i>Imperata cylindrica</i>	
10		<i>Pomoea</i> spp.	<i>Cyperus rotundus</i>		<i>Cyperus ferax</i>	
Nº de especies por grupo	4	6	6	4	7	5

1/ *P. Aquilinum*, realmente es una planta que no se reproduce por semilla y pertenece a las Pteridofitas, pero por conveniencia en este cuadro se le consideró como una planta de hoja angosta

la más frecuentemente encontrada en todas las regiones, excepto en la Región V. Como el *P. aquilinum* se desarrolla preferiblemente en suelos ácidos, su ocurrencia indica que parte de la yuca se cultiva en suelos de este tipo.

Otra de las especies encontradas que rara vez se considera como maleza es *Melinis minutiflora*, un pasto común en las áreas templadas de Colombia. La especie *Bidens pilosa* se encontró comúnmente en todas las visitas, pero su importancia fue mayor en cultivos entre los ocho y doce meses de edad. El *Cyperus rotundus* se clasificó entre las diez especies de malezas más importantes en la primera y segunda visitas, pero no en la tercera, lo cual es consistente con la observación de que las malezas de hoja angosta tienden a desaparecer de los cultivos cuando estos cierran su cobertura foliar y proyectan un sombrío total. En la primera visita, la especie *Commelina diffusa* ocupó el segundo lugar en importancia, pero su frecuencia disminuyó con el tiempo, como ocurrió con las especies *Sida acuta* y *Portulaca oleracea*.

Se observó un ligero cambio de predominio de malezas dicotiledóneas en la primera visita a malezas monocotiledóneas en la segunda y tercera visitas. Probablemente esto indica que las monocotiledóneas son más difíciles de controlar y son más tolerantes al sombrío.

Se observaron algunas diferencias significativas entre regiones con relación a las especies más comunes (Cuadro 4). El *P. aquilinum* sólo predominó en la Región III, donde se encontró en el 80 por ciento de los cultivos visitados. Esta especie podría ser un problema regional severo, pero no un problema nacional.

Con *C. rotundus* se presentó una situación similar. Esta especie sólo predominó en el área de la Costa Atlántica (Región V). Además, otras cuatro especies solamente fueron abundantes en la Costa Atlántica, lo cual indica que los problemas de malezas en esta zona son muy diferentes a los encontrados en el interior del país. En consecuencia, las recomendaciones para el control de malezas deben ser diferentes para cada región.

La única maleza abundante en las cinco regiones fue la especie *Sida acuta*. Se encontró una maleza similar (*S. rhombifolia*) en tres regiones. Las especies *Cyperus ferax* y *Bidens pilosa* se presentaron en cuatro regiones, lo cual indica su amplia distribución bajo diferentes condiciones climáticas y ecológicas. La mayoría de las especies aún sin mencionar fueron abundantes por lo menos en dos regiones

#### Densidad de población

Otro aspecto relativamente importante de las diferentes especies de malezas es el que se refiere a su densidad de población. En el Cuadro 5 se presenta la población por hectárea de malezas de hoja angosta, de hoja ancha, ciperáceas y helechos para cada región y visita. Dentro de cada región sólo se observaron ligeras variaciones entre el número de malezas en la primera y la tercera visita. La única excepción fue para las ciperáceas, las cuales desaparecieron de las Regiones I, III y IV, y cuya población se redujo considerablemente en las Regiones II y V, en la tercera visi-

ta. Este hecho es consistente con la baja tolerancia de las ciperáceas al sombrío. La región III presentó la menor población de malezas por hectárea, lo cual posiblemente indica que en esta área se implementan mejores prácticas de control.

Las Regiones I y III presentaron las menores densidades de malezas, en tanto que las Regiones II y V presentaron las mayores densidades. Si se supone una población de yuca de 10 000 plantas/ha, la población de malezas por planta de yuca en las Regiones II y V sería de 534 y 677 plantas, respectivamente (Cuadro 5). La alta densidad de malezas en la Región V se debe principalmente al *C. rotundus*, una maleza rizomatosa perenne, la cual puede producir 11 millones de brotes por hectárea (2). En el Cuadro 6 se presentan las diez especies con las mayores densidades. Aparentemente, las especies con poblaciones más altas por unidad de área no coinciden con las especies que se encontraron más frecuentemente (Cuadro 4). En las Regiones I, II, IV y V, solamente cuatro especies fueron comunes a los Cuadros 3 y 5, en tanto que en la Región III, seis especies fueron comunes. Por lo

Cuadro 4 Orden de importancia de las diez especies de malezas más frecuentemente encontradas en los cultivos de yuca en cada región<sup>1/</sup>

Orden	Región I	%	Región II	%	Región III	%	Región IV	%	Región V	%
1	<i>Ageratum conyzoides</i>	30	<i>Commelina diffusa</i>	53	<i>Pteridium aquilinum</i>	80	<i>Mimosa</i> sp	31	<i>Cyperus rotundus</i>	52
2	<i>Richardia scabra</i>	26	<i>Ageratum conyzoides</i>	36	<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	49	<i>Sida acuta</i>	29	<i>Euphorbia hirta</i>	30
3	<i>Bidens pilosa</i>	25	<i>Digitaria sanguinalis</i>	30	<i>Melinis minutiflora</i>	48	<i>Digitaria sanguinalis</i>	22	<i>Ipomea</i> spp	30
4	<i>Andropogon bicornis</i>	20	<i>Bidens pilosa</i>	23	<i>Bidens pilosa</i>	24	<i>Melinis minutiflora</i>	20	<i>Commelina diffusa</i>	27
5	<i>Melinis minutiflora</i>	20	<i>Cyperus ferax</i>	20	<i>Imperata cylindrica</i>	23	<i>Cyperus luzulae</i>	18	<i>Cyperus ferax</i>	19
6	<i>Borreria laevis</i>	20	<i>Eleusine indica</i>	17	<i>Hyparrhenia rufa</i>	14	<i>Imperata cylindrica</i>	16	<i>Digitaria sanguinalis</i>	18
7	<i>Pteridium aquilinum</i>	13	<i>Sida acuta</i>	11	<i>Richardia scabra</i>	14	<i>Paspalum conjugatum</i>	15	<i>Paspalum virgatum</i>	14
8	<i>Sida acuta</i>	10	<i>Portulaca oleracea</i>	9	<i>Sida acuta</i>	12	<i>Bidens pilosa</i>	11	<i>Setaria geniculata</i>	14
9	<i>Sida rhombifolia</i>	9	<i>Cyperus diffusus</i>	9	<i>Desmodium tortuosum</i>	7	<i>Cyperus ferax</i>	9	<i>Eleusine indica</i>	11
10	<i>Hyparrhenia rufa</i>		<i>Sida rhombifolia</i>	8	<i>Sida rhombifolia</i>	7	<i>Eleusine indica</i>	9	<i>Sida acuta</i>	9

1/ Los datos se basaron en la segunda visita a los cultivos (4 a 8 meses después de siembra).

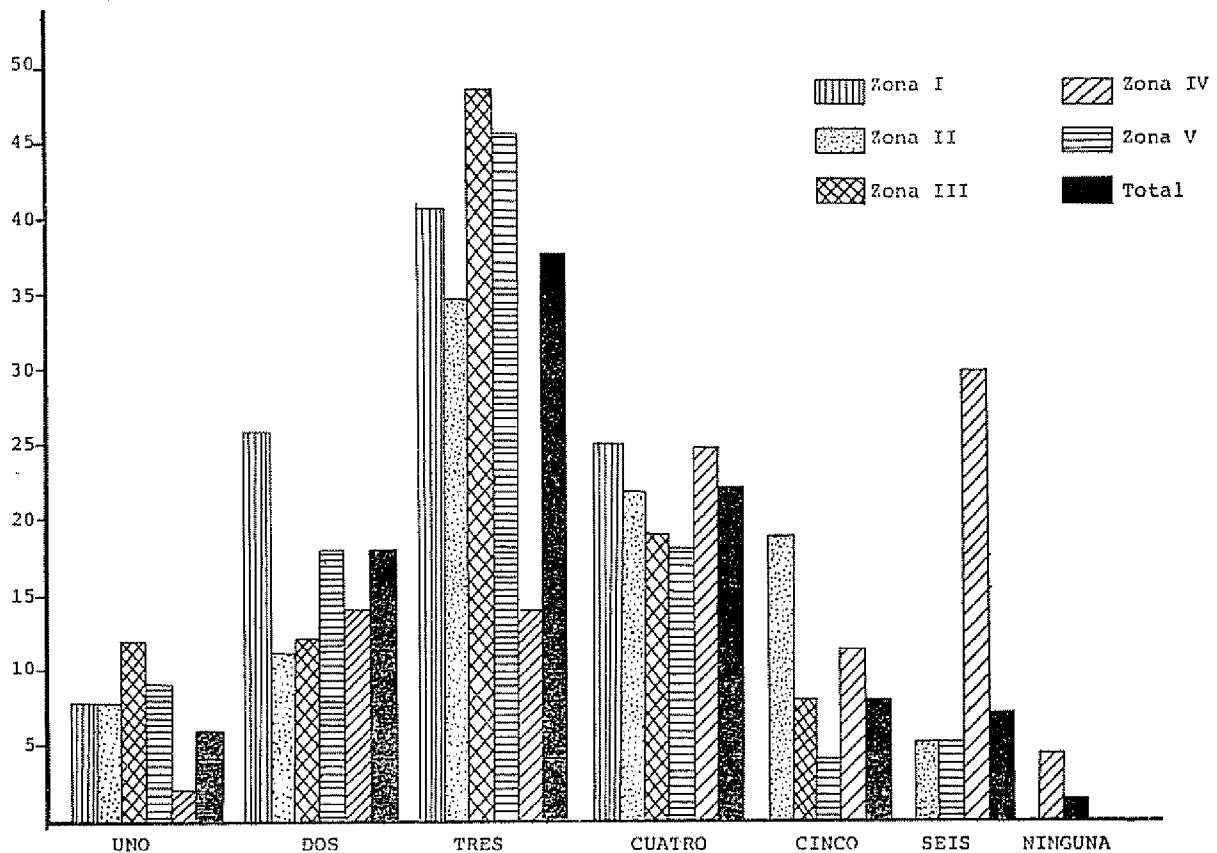
Proporción de  
Cultivadores

Fig 1. Proporciones de los cultivadores de yuca de las cinco regiones que hacen desde una hasta seis deshierbas

menos la mitad de las especies de malezas de mayor densidad en cada región fueron monocotiledóneas.

Aparentemente, la especie *C. rotundus* la controlaron mejor en la Región IV que en la Región V, puesto que las poblaciones fueron mucho más altas en esta última. Las especies *B. pilosa*, *Stachytarpheta cayennensis* y *Ageratum conyzoides* se encontraron entre las diez primeras especies por lo menos en tres regiones, lo cual refleja su gran capacidad de dispersión, de distribución y de producir poblaciones relativamente altas.

En el Cuadro 7 se presenta una lista de otras especies de malezas que podrían causar problemas locales, y las cuales se encontraron por lo menos en el tres por ciento de los cultivos en alguna región. Entre estas, *Cynodon dactylon* ocasionaría el mayor problema, debido a su agresividad y resistencia a los herbicidas preemergentes y a las operaciones de deshierba manual o mecánica. Esta especie y *Panicum maximum* se consideran como las peores malezas del mundo (5)

#### Control de malezas y costos

La mayor parte del control de malezas en yuca en Colombia se lleva a cabo manualmente con herra-

mientas sencillas. Sólo el tres por ciento de la muestra de cultivadores empleó el control químico. Como se presenta en la Figura 1, aproximadamente un tercio de los cultivadores requirieron tres deshierbas durante el período de crecimiento del cultivo, en tanto que algunos hicieron hasta seis deshierbas.

Se estimó que el control de las malezas absorbió el 50 por ciento del total de la mano de obra requerida para la producción de yuca (Cuadro 8), lo cual corresponde a más de un tercio de los costos totales de producción (3). La mano de obra requerida por hectárea osciló entre 38 días-hombre en la Región IV y 58 días-hombre en la Región II, con un promedio total de 48 días hombre/ha.

Una de las razones por las cuales la mayoría de los cultivadores de yuca en Colombia no utilizan el control químico de las malezas es el costo relativo de los herbicidas y de la mano de obra. El control químico de las malezas tiene un costo aproximado de US\$40/ha\*. Con el fin de justificar el control químico, el jornal debe ser superior a los US\$0.84/día, al suponer un requerimiento promedio de mano de obra para el control manual de 48 días-hombre/ha. Si el

\* Tasa de cambio en 1974. \$25 Col/US\$1.

jornal se encuentra por debajo de este nivel, el control manual es menos costoso que el uso de herbicidas. En algunas regiones y durante ciertas épocas, el jornal se puede pagar a menos de US\$0.84/día. Otro aspecto aún más importante, es que los pequeños cultivadores no disponen de un empleo alternativo, el cual les permita comprar los herbicidas y, por lo tanto aceptar el jornal relativamente bajo de US\$0.84/día.

Otras razones expresadas por los cultivadores para no utilizar herbicidas incluyen: 1) la falta de información sobre los métodos de aplicación y el riesgo por el daño que se le puede causar al cultivo debido a las aplicaciones equivocadas, 2) la falta de capital para comprar aspersores, 3) la no disponibilidad de los herbicidas adecuados y 4) la disponibilidad limitada de los herbicidas en envases pequeños y apropiados.

#### Conclusiones e implicaciones para el futuro

En virtud de que la información colectada indicó que las malezas frecuentemente encontradas en los cultivos de yuca corresponden a las especies más comunes, se hizo una comparación entre la efectividad de los herbicidas recomendados en yuca. La mayoría de las malezas anuales de hoja angosta y hoja ancha son susceptibles a los tratamientos preemergentes recomendados corrientemente (4).

Sin embargo, en informes no publicados aún se discute sobre el control de *P. aquilinum* en yuca, la cual fue la maleza más frecuentemente encontrada en los cultivos visitados y, por consiguiente, la más importante. Igualmente, el *C. rotundus* es otro problema serio, especialmente en la etapa de crecimiento de la yuca y, por lo tanto, es necesario desarrollar métodos

Cuadro 5. Población de malezas de hoja angosta, hoja ancha, ciperáceas y helechos en los cultivos de yuca en cinco regiones durante las tres visitas

Tipo de maleza	10 000 Plantas/hectárea					Total
	Región I	Región II	Región III	Región IV	Región V	
<i>Primera visita</i>						
Angosta	114	199	27	90	185	123
Ancha	191	278	249	194	204	223
Ciperáceas	24	103	6	47	284	93
Helechos	1	2	8	7	0	4
<i>Segunda visita</i>						
Angosta	99	139	35	127	285	157
Ancha	285	397	111	190	294	255
Ciperáceas	5	62	6	50	254	75
Helechos	8	12	8	8	0	7
<i>Tercera visita</i>						
Angosta	34	134	58	75	143	89
Ancha	197	240	48	95	250	166
Ciperáceas	0	8	0	0	131	29
Helechos	9	4	8	6	0	5
<i>Prom. visita región</i>						
Angosta	82	157	40	97	204	
Ancha	224	305	136	160	250	
Ciperáceas	10	66	4	32	223	
Helechos	6	6	8	7	0	
Promedio Región	322	534	188	296	677	

Cuadro 6. Orden de importancia de las diez especies de malezas en cada región con base en su densidad de población<sup>1/</sup>

Orden	Región I	1000 plantas /ha	Región II	1000 plantas /ha	Región III	1000 plantas /ha	Región IV	1000 plantas /ha	Región V	1000 plantas /ha
1	<i>Tridax procumbens</i>	340	<i>Tridax procumbens</i>	240	<i>Bidens pilosa</i>	34	<i>Digitaria sanguinalis</i>	247	<i>Cyperus rotundus</i>	1296
2	<i>Leptochloa filiformis</i>	300	<i>Paspalum conjugatum</i>	250	<i>Ageratum conyzoides</i>	90	<i>Cyperus rotundus</i>	233	<i>Cyperus ferax</i>	522
3	<i>Commelina diffusa</i>	260	<i>Commelina diffusa</i>	225	<i>Imperata cylindrica</i>	80	<i>Paspalum conjugatum</i>	210	<i>Digitaria sanguinalis</i>	360
4	<i>Homolepsis aturensis</i>	160	<i>Leonotis nepetaefolia</i>	190	<i>Pteridium aquilinum</i>	79	<i>Bidens pilosa</i>	187	<i>Cynodon dactylon</i>	260
5	<i>Sida acuta</i>	151	<i>Ageratum conyzoides</i>	150	<i>Richardia scabra</i>	70	<i>Paspalum notatum</i>	164	<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	240
6	<i>Setaria geniculata</i>	140	<i>Desmodium tortuosum</i>	150	<i>Cyperus luzulae</i>	60	<i>Imperata cylindrica</i>	111	<i>Mimosa pudica</i>	180
7	<i>Bidens pilosa</i>	131	<i>Cyperus diffusus</i>	133	<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	56	<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	110	<i>Boerhaavia decumbens</i>	164
8	<i>Hyparrhenia rufa</i>	120	<i>Eleusine indica</i>	131	<i>Hyparrhenia rufa</i>	52	<i>Panicum maximum</i>	110	<i>Corchorus orinocensis</i>	147
9	<i>Imperata cylindrica</i>	104	<i>Dichromena ciliata</i>	120	<i>Andropogon bicornis</i>	50	<i>Richardia scabra</i>	107	<i>Cyperus luzulae</i>	146
10	<i>Ageratum conyzoides</i>	101	<i>Pteridium aquilinum</i>	120	<i>Borreria laevis</i>	50	<i>Euphorbia hirta</i>	100	<i>Eleusine indica</i>	124
		181		169		72		158		344

1/ Los datos corresponden a las informaciones colectadas en la segunda visita, y por lo menos en el 3 por ciento de las fincas de cada región

efectivos para su control. Las especies de gramíneas perennes *I. cylindrica* y *M. minutiflora* requirieron atención especial, puesto que los herbicidas preemergentes no las controlan efectivamente. Ambas especies de *Sida* pueden ser problemáticas, y no se han investigado lo suficiente en América Latina, para desarrollar los mejores métodos de control en cultivos como la yuca.

Se recomienda adelantar futuras investigaciones para resolver los problemas encontrados en las regiones de Colombia donde se cultiva yuca.

Se estimó que el control de las malezas absorbe más de la mitad de la mano de obra requerida, lo cual equivale a más de la tercera parte de los costos totales de producción de yuca. Sin embargo en ausencia de un método eficaz de control, las malezas pueden ser un factor limitante del rendimiento. En consecuencia, es necesario desarrollar métodos eficaces y eficientes para controlar las malezas en este cultivo, y transferir a los cultivadores de yuca la información necesaria sobre éstos métodos.

### Resumen

Con base en observaciones directas y encuestas realizadas por un equipo de Agrónomos y Economistas Agrícolas adiestrados, se determinaron las especies de malezas más frecuentemente encontradas en cinco regiones productoras de yuca en Colombia, su densidad de población y los métodos de control utilizados. El equipo realizó 3 visitas en 3 épocas de crecimiento de las plantaciones (menos de 4 meses, 4-8 meses y 8-12 meses) de una muestra representativa de aproximadamente 300 cultivadores de yuca.

Las malezas de hoja ancha fueron las más comunes en todas las regiones, (62-65% de todas las especies de malezas). Se observó una ligera variación de la población de malezas de hoja angosta y ciperáceas en los cultivos avanzados. La especie más frecuentemente encontrada en todas las regiones fue *Pteridium aquilinum*. Otras malezas problemáticas en algunas regiones fueron *Bidens pilosa* y *Cyperus rotundus*. Se observaron diferencias significativas entre las regiones



Cuadro 7. Otras especies de malezas observadas por lo menos en el 3 por ciento de los cultivos en una o más regiones durante la segunda visita.

Especie	Región
<i>Mollugo verticillata</i>	I
<i>Clidemia hirta</i>	I
<i>Paspalum notatum</i>	I
<i>Amaranthus dubius</i>	II, 5
<i>Cynodon dactylon</i>	II
<i>Tridax procumbens</i>	II
<i>Leonotis nepetaefolia</i>	II
<i>Tagetes patula</i>	III
<i>Panicum maximum</i>	II
<i>Dichromena ciliata</i>	IV
<i>Brachiaria decumbens</i>	IV
<i>Homolepsis aturensis</i>	IV
<i>Laurentia longiflora</i>	V
<i>Melochia pyramidata</i>	V
<i>Boerhaavia decumbens</i>	V
<i>Corchorus orinocensis</i>	V
<i>Momordica charantia</i>	V
<i>Crotalaria striata</i>	V

en lo que respecta a la frecuencia de las especies encontradas; sin embargo, varias malezas fueron comunes a varias regiones. Las malezas con mayor densidad de población no coincidieron con las más frecuentemente encontradas. La mayoría de las malezas anuales de hoja angosta, hoja ancha y ciperáceas son susceptibles a los herbicidas corrientemente recomendados, pero se requiere mayor investigación sobre algunas malezas perennes como *P. aquilinum* y *Sida* spp.

La mayor parte del control de malezas se realiza manualmente; sólo un 3% de los cultivadores de la muestra utilizó el control químico. El número promedio de dehierbas absorbieron aproximadamente el 50% de la mano de obra total requerida para la producción de yuca, y correspondieron a más de 1/3 de los costos totales. Con base en las encuestas, se determinó que los cultivadores no utilizan herbicidas debido a 1) el

Cuadro 8. Mano de obra utilizada en desyerbas para la producción de yuca en Colombia.

Región	Días-hombre/ha	Porcentaje del total de la mano de obra utilizada
I	46	45
II	58	68
III	43	52
IV	38	59
V	51	57
Promedio	48	55

costo relativo de los herbicidas y mano de obra, 2) la falta de información, 3) la falta de capital, 4) la indisponibilidad de herbicidas adecuados y 5) la disponibilidad limitada de herbicidas en envases pequeños y apropiados.

Se concluyó que es necesario encaminar los programas de investigación hacia la resolución de los problemas encontrados, mediante el desarrollo de métodos de control de malezas eficientes y eficaces, y la transferencia de la información a los agricultores.

#### Literatura Citada

- CARDENAS J., REYES, C y DOLL, J., Tropical Weeds. Bogotá, Italgraf, 1975 341 p
- CRUZ, R y CARDENAS, J Resumen de la investigación sobre control de coquito (*Cyperus rotundus* L.) en el Valle del Sinú, Depto. de Córdoba, Colombia Revista Comalfi 1: 3-13, 1974
- DIAZ, R. O., PINSTRUP-ANDERSEN, P y ESTRADA, R D Costos y utilización de insumos en la producción de yuca en Colombia CIAT. Boletín Técnico ES-No 5, 1975 36 p
- DOLL, J y PIEDRAHITA, W. Methods of weed control in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) CIAT, Boletín EE 22, 1976 12 p.
- HOLM I. Weed problems in developing countries. Weed Science 17: 113-118, 1969
- PEREZ, A Los helechos y su relación con la Hematuria Revista Comalfi 1: 58-68, 1974

# Some factors affecting fat content in cacao beans (*Theobroma cacao* L.), with emphasis on the effect of the pollinator parent<sup>\*1/</sup> \_\_\_\_\_ M. A. BEEK\*\*, A. B. ESKES\*\*, H. TOXOPEUS\*\*\*

## RESUMO

*As sementes obtidas em dois experimentos de polinização controlada foram mizadas no estudo de variação da porcentagem de gordura nas sementes de cacau. A análise dos resultados não permitiu detectar diferenças significativas entre as plantas de um mesmo clone. Uma correlação positiva e significativa ( $r = 0,56$  a  $0,66$ ) foi encontrada entre o peso seco das sementes e a porcentagem de gordura, calculado com base nos totais das amostras de cada um dos clones. As determinações em sementes individuais mostravam correlações baixas e muitas vezes insignificativas. A variabilidade observada, com respeito a porcentagem de gordura, nas sementes obtidas nos diferentes cruzamentos e mesmo dentro de um único fruto, chegou a um máximo de 8 por cento.*

*Tanto o efeito do pólen, como do clone materno, resultaram em diferenças significativas com relação a porcentagem de gordura. As determinações em sementes individuais mostravam diferenças consideráveis entre os diversos cruzamentos no que respeita a variação do caráter, enquanto que os recíprocos revelavam amplitude de variação semelhante. Estas observações indicam que o genótipo do zigoto poderá ser o fator principal na determinação da porcentagem de gordura nas sementes.*

### Introduction

**A**LTHOUGH the cacao crop is not a typical oil crop, its seeds contain about 50 per cent of a valuable fat. The demand for cacao butter has always been high, due to its various industrial applications e.g. in pharmaceutical and cosmeceutical products. Already various researchers have paid attention to this important character. Vello (7), when measuring the fat content of hybrid progenies in Bahia, Brazil, discovered differences up to three per cent, suggesting however that many uncontrolled factors might have affected the differences. Alvarado and Bullard (1) indicated intermediate inheritance, when comparing three hybrid po-

pulations to their parent clones Toxopeus and Wessel (6) describe how the season can affect fat content and showed furthermore a positive correlation between bean weight and fat content within a West-African farmers population. As first reported by Toxopeus and Jacob (5), pollination studies indicate that both the female and male parent might influence the fat content of the beans.

This study was aimed to further analyse the factors affecting fat content and to determine the variation between individual beans. Special attention was paid to the effect of the pollinator parent.

### Material and methods

The beans analysed resulted from pollination experiments carried out in the clonal garden of the Cacao Research Center, CEPEC, in Itabuna, Bahia, Brazil. Eight different clones were crossed in a 4 by 4 reciprocal scheme (Table 4). Because little was known about the fat content of the clones, the choice of the parents was mainly based on variability in pod characters and bean weight. IMC 67, SCA 12, ICS1 and UF677 are important clones used for hybrid production and have a different parental background. The SIAL and SIC

\* Received for publication on April 5th. 1976.

1/ Field research was performed at the Cacao Research Center CEPEC/CEPLAC, in Itabuna, Bahia, Brazil. Elaboration of the results and processing of the data was done at the Agricultural University of Wageningen, as part of the thesis of the first two authors for obtaining the 'Ir' degree.

\*\* Graduate students of Wageningen, The Netherlands. Present address of Ir Beek: Centro Melhoramento de Trigo EMBRAPA, C. P. 351, 99 100 Passo Fundo, R. S. Brazil. Present address of Ir Eskes: Seção de Genética, Instituto Agronômico, Campinas S. P. Brazil.

\*\*\* Foundation of Agricultural Crop Breeding, Institute 'De Haaff', P. O. Box 117, Wageningen, The Netherlands.

clones are selections from the local Amelonado population. The SIC clones belong to the local white beaned cultivar 'Catongo', which reportedly contains 2 per cent more fat than the local purple population (personal communication, F. Vello). The success of the reciprocal part of the pollination scheme has been small, due to a heavy wilting of young fruits. This was notably more severe on the SIAL and SIC clones, probably because they had been heavily hand-pollinated for hybrid production in the years before, so that their physiological condition was poor.

The pollinations were carried out in a few weeks of July 1970, so as to avoid seasonal influences. To protect the flowers from insect visits, glass tubes were placed on them before and after pollination. Each cross was made on one or more different mother trees. The fruits were all harvested in the same phase of ripening, *i.e.* when the colour changed clearly from green or red to yellow. Very irregular or damaged fruits were excluded from the experiment. Immediately after harvest the beans were peeled off and dried for 48 hours at 105°C, and then stored until fat analyses were done in the summer of 1972.

The possible effect of different female trees of one clone on the fat content of its beans was studied separately. Two or three different trees of SCA 12 were pollinated with each of three male parents. Pollinations of this experiment were performed in December 1970 and the fruits harvested in June 1971.

All fat analyses reported here were done by the low resolution nuclear magnetic resonance method (NMR). The equipment used was the Newport Instruments Quantity Analyser MK 1A of the Central Institute for Nutrition and Food Research T.N.O. in Zeist, Holland. The N.M.R. appeared to be a quick and accurate method for fat determinations in chocolate and related products (8). The method has also been used before for oil determinations of individual seeds of many oil crops (3). In our random samples of beans from the same population the NMR detected constantly about 1 per cent more fat than the traditional soxhlet method. This difference is most probably due to fat remaining in undestroyed cells, that is not extracted by the soxhlet method (8). The NMR apparatus was equipped with two measure units: the 40 ml unit was used for the determinations on the random samples from the crosses, and the 2 ml unit was used for the individual bean measurements.

When sampling for fat analyses, the beans of each cross were first divided in 5 weight classes, each representing 20 per cent of the total variation in bean weight of the cross. Afterwards, two subsamples were chosen randomly within each weight class. Thus fat content and bean weight could be related as well as the average fat content per cross determined. Each subsample contained 7 to 16 whole peeled and dried beans, weighing together 12 to 16 grams, which was about the maximum to enter in the 40 ml measure unit. Between every 10 samples two controls containing pure cacao butter were measured for calibration purposes and to determine the accuracy of the method. The average dif-

ference for the two control samples was 0.36 per cent with a standard deviation of 0.33 per cent.

Individual beans were sampled from 4 crosses and their reciprocals. For the fat determinations they had to be crumbled to enter in the 2 ml measure unit. Beans with a bigger weight than 1 gram did not enter completely in the unit and in those cases a random sample from the crumbs was taken. The average difference between the two control tubes was for the individual bean measurements 0.50 with a standard deviation of 0.30.

Processing of the results was done by hand calculations and by computer, using programs for analyses of regression, correlation and variance.

### Results

#### *The effect of the tree on fat content*

The possible difference between one tree and another of the same clone was studied by crossing randomly chosen SCA 12 trees with three different male parents. From each tree two to five fruits were harvested and the beans mixed together, from which two subsamples were taken for fat analyses (Table 1-a). The statistical analysis, as shown in Table 1-b, indicates the effect of the trees not to be significant. The P value for trees within pollinator parents exceeds by far the 10 per cent level of significance. Notable is, that the effect of the pollinator is significant at the 5 per cent level.

#### *Correlation between bean weight and fat content*

Based on the records of 10 samples per cross, the correlation between dry peeled bean weight and fat content was established. The 10 samples were taken 2 by 2 from 5 bean weight classes, representing the whole range of variation in bean weight of the particular cross. Table 2-a shows a positive and significant correlation for nearly all crosses, existing however important differences between crosses. In order to calculate the overall correlation within crosses, the records of each sample were expressed as percentages of the average of each cross. Based on these relative figures of all 160 samples, the correlation appeared to be significant with  $r = 0.56$  and  $b = 0.06$  (Table 2-b). This indicates that within each cross an increase of 100 per cent in bean weight was accompanied by an average increase of 6 per cent in fat (absolute figures about 3 per cent fat content).

Table 1-b: *Analysis of variance*

source	df	ms	F	P
Pollinators	2	9.498	14.47	0.027
Trees within pollinators	4	0.933	1.63	0.267
Error	7	0.570		

Table 1-a—Fat analyses of some crosses, using 2 or 3 different trees for each combination

Cross	SCA 12 x IMC 67			SCA 12 x UF 615		SCA 12 x SIAL 98	
	a	b	c	d	e	f	g
Tree code							
Number of harvested beans	178	164	182	144	17	140	179
Fat content subsamples	510 544	542 541	565 544	532 537	543 547	519 526	507 522
Average per tree	542	541	554	535	545	522	514
Average per cross	516			540		518	

Table 2-b furthermore shows the correlation calculated for the average records of each cross being insignificant (correlation 1). However, when by subtraction the figures were made relative to the averages of each clone, the correlation becomes significant again (correlation 3). This difference disappears when excluding from the first calculation those clones with particular high bean weights, ICS 1 and UF 677 (correlation 2). This indicates, that the observed relation between bean weight and fat content may exist within certain populations, but not necessarily between populations.

Table 2 a: Correlation and regression coefficients between fat content (in %) and peeled dry bean weight (in grams), as measured by 10 samples per cross, divided over 5 classes for bean weight. Model for linear regression is  $y = a + bx$ , where y is fat content and x is bean weight. The significance of the correlation (r) and regression (b) coefficients is indicated by 1 or 2 dots (5 and 1% level respectively). The figures under "total" indicate the values as calculated over all subsamples per clone

		SIAL 105	SIAL 169	SIC 802	Total SIC 806	
IMC 67	b	5.84	3.50	0.95	3.22	3.45
	r	0.93 ..	0.85 ..	0.57 .	0.83 .	0.56 ..
SCA 12	b	1.93	6.19	2.40	2.04	4.15
	r	0.40	0.91 ..	0.66 .	0.67 .	0.56 ..
ICS 1	b	x	x	2.48	0.04	3.00
	r			0.66 ..	0.01	0.57 ..
UF 677	b	2.63	2.98	x	4.17	3.48
	r	0.63 .	0.75 ..		0.81 ..	0.66 ..

		IMC 67	ICS 1	UF 677	Total
SIAL 105	b	3.31	10.88	-2.44	10.34
	r	0.69 .	0.75 ..	-0.15	0.65 ..

*Fat analyses on individual beans.*

From four crosses and their reciprocals, individual beans were sampled at random for fat determinations. The standard deviation for fat content within each cross varied from 0.8 to 2.2, showing the absolute variation for some crosses to be as high as 8 per cent (see Table 3). Even within single fruits, like in the cross SIC 806 x UF 677, we can observe this magnitude of variation. The beans of this cross varied from 49.3 to 56.9 in fat content. In general all crosses with UF 677 showed relatively high variation.

The correlation coefficient between dry bean weight and fat content appeared to be low and nearly always non-significant.

*Effect of the pollinator on fat content and bean weight*

Table 4-a shows the results as averages of the 10 samples per cross. The variation in fat content between both male and female parents was relatively small, but equal in magnitude. The maximum difference between females was 1.86 per cent and between males 1.77 per cent fat. The statistical analysis (Table 4-b) shows the effect of the females to be significant at the 5.5 per cent level. The effect of the pollinator parent was significant at the 10.3 per cent level.

Notwithstanding the positive correlation between bean weight and fat content as observed for the average figures per cross (Table 2-b), the effect of the pollinator parent on bean weight did not show to be significant.

*Conclusions and discussion*

The absolute variation in fat content between the crosses of our experiment was about 6 per cent, SIAL 105 x ICS 1 being lowest with 50.3 per cent and IMC 67 x SIAL 105 highest with 56.3 per cent. However even greater variation can be expected within the cacao crop. Alvarado and Bullard (1) showed differences from 47.9 to 55.4 per cent. Toxopeus (4) demonstrated a variation of 48.9 to 62.3 per cent in fat content when analysing bean samples of 26 crosses, all harvested within a few days time so as to avoid seasonal in-

fluence This variation, relatively being about 25 per cent, should be of interest to the cacao breeders since chocolate manufacturers use to pay more for a higher fat content (1).

For the individual bean measurements the correlation coefficients between bean weight and fat content appeared to be low and nearly always non-significant. However when samples were analysed consisting of several beans and chosen from different weight classes, the correlation becomes in general positive and significant (Table 2). Toxopeus and Wessel (6) showed a similar correlation to exist within a West-African farmers population. From our results it cannot be deduced if this correlation is mainly based on physiological or genetical factors. Table 4-b shows a positive and significant correlation for the average records per cross, when related to the average of each female clone. The pollinators inducing high fat content generally caused a higher bean weight too, indicating a genetical effect on the correlation. The differences in bean weight, however, were not such as to result in a significant effect of the pollinator parent on bean weight.

Important differences in variation of fat content of individual beans were observed between crosses, the reciprocals of wich showed similar magnitudes of variation (Table 3). This indicates that differences in variation of fat content may be determined genetically and that selection for genotypes inducing high variation should be possible. In our experiment UF 677 showed, either used as male or female parent, to induce the highest variability.

Our results confirm the effect of the pollinator on the fat content of the beans as first reported by Toxopeus and Jacob (5). Differences of 3-4 per cent in fat content were observed between male parents. The statistical analysis in one case detected significance at 2.7 per cent and in the other case at 10.3 per cent (Table 1-b and 4-b respectively). The SIC and SIAL clones, used as male parents in Table 4-a, are all selections from the local Amelonado population. We consider those clones to be alike in their inherent fat content in such a degree as to diminish the apparent effect of the pollinator parent

Table 2-b—Overall correlation and regression coefficients for dry bean weight versus fat content. For the correlations from 1 to 4 the absolute fat content and bean weight were used, for the 5th correlation, however, the data were transferred into percentages of the averages per cross.

	r	b
1 — for the averages of all crosses (see table 4-a)	0.44	1.58
2 — idem 1, excluding the crosses on ICS 1 and UF 677	0.81..	17.71
3 — for all crosses, but related to the average per female clone by subtraction	0.76..	11.04
4 — idem 3, excluding the crosses on ICS 1 and UF 677	0.76..	12.57
5 — for all 160 samples, but expressed as percentages of the average records of each cross (= 100)	0.56..	0.06

Observing the results some indications for practical use might be considered. First, when screening trees or clones on fat content, the effect of the pollinator will have to be taken in account and preferably all material should be crossed with the same male parent. Second, we may conclude from the significant effect of the pollinator, that the genotype of the bean might be the main factor in determining its fat content, indicating that differences between individual beans may also be inheritable. For the maize (*Zea mays* L.) crop this has been demonstrated, and Bauman (2) achieved important progress by single kernel selection for higher oil content. To investigate this possibility for cacao, a non destructive method for individual bean determinations will have to be developed. The NMR is a destructive one, because the beans have to be dried under 5 per cent humidity wich will kill the seed. Possibly indirect measurements using differences in specific gravity or

Table 3.—Fat analyses on individual beans of four crosses and their reciprocals.\*

Crosses	SIAL 105	reci-	SIAL 105	reci-	UF 677	reci-	IMC 67	reci-
	x IMC 67	procal	x UF 677	procal	x SIC 806	procal	x SIC 806	procal
Number of fruits sampled	13	15	9	6	7	1	13	1
Number of beans analysed	30	30	30	29	31	14	30	18
$\bar{y}$	53.4	55.3	53.6	54.3	55.9	54.1	55.8	54.2
Sy	1.33	1.27	2.19	2.21	2.13	2.01	0.84	1.17
r	0.43	0.18	0.05	0.39	0.29	-0.07	0.20	-0.21

\*  $\bar{y}$  = average fat content of all beans measured

s = standard deviation of fat content and r = the correlation coefficient between fat content and dry bean weight (significance at 5% indicated with one dot)

Table 4-a.—Results of the pollinations and fat determinations. Top figure: number of fruits harvested, middle figure: fat content and lower figure: dry bean weight per cross. The fat content and bean weight were determined as averages of the records of 10 samples per cross, each of which contained 7 to 16 beans

	SIAL 105	SIAL 169	SIC 802	SIC 806	average fat content and bean weight
IMC 67	15 56.39 0.91	15 54.09 0.82	6 56.07 0.98	13 55.81 0.77	55.59 0.87
SCA 12	13 52.97 0.76	15 52.92 0.79	14 54.78 0.87	13 54.28 0.81	53.73 0.81
ICS 1	0 (54.32)* (1.76)*	0 (53.52)* (1.70)*	9 54.41 1.70	14 55.87 1.88	54.53 1.76
UF 677	6 54.52 1.73	14 54.48 1.62	0 (55.66)* (1.76)*	7 56.11 1.78	55.19 1.72
Average fat content	54.54	53.76	55.23	55.52	
Average bean weight	1.29	1.23	1.33	1.31	

reciprocals	IMC 67	ICS 1	UF 677	average fat content and bean weight
SIAL 105	13 54.38 0.87	11 50.32 0.68	9 52.29 0.77	52.35 0.77

\* Figures calculated by the missing plot technique.

the half bean technique will prove to be adequate. If indeed single beans transmit their fat content to the trees growing from them, this will be of substantial aid in accelerating breeding progress in the perennial cacao crop.

#### Summary

The beans resulting from two pollination experiments were used for the study of some sources of variation on the fat content of cacao beans. No significant differences between trees of the same clone were found. A positive and significant correlation ( $r=0.56$  to  $0.66$ ) between bean weight and fat content existed within the bean populations as a total for female clones. For individual bean measurements, however, this correlation was low and often insignificant. Absolute differences in fat content of individual beans within a cross or even within one fruit could be high as 8 per cent.

Female and male parents both affected significantly the fat content of the beans. Also the fat determinations

on individual beans showed considerable differences in variation of fat content between crosses, the reciprocals of which always showed the same magnitude of variation. So it would seem, that the genotype of the zygote may be a main factor in determining its fat content.

Table 4-b.—The analysis of variance for parental effects on fat content (the reciprocals are excluded)

source	df	ms	F	P
Female parent	3	2.495	4.55	0.055
Male parent	3	1.770	3.23	0.103
Error	6	0.548		

### Acknowledgements

We are very grateful to the directors of CEPEC, Dr P. de T. Alvim and Dr F. Vello, who made it possible for us to execute our experiments as graduate students at the Cacao Research Center in Itabuna, BA, Brazil. Dr. J. E. Parlevliet and Ir. L. R. Verdooren of the Agricultural University in Wageningen, Holland, have been especially helpful to us for the processing of the data, including computer programming. We also thank Mrs W. van der Hoek of the Central Institute for Nutrition and Food Research TNO in Zeist, Holland, who greatly contributed by supervising the NMR fat determinations.

### Resumen

Las semillas obtenidas en dos experimentos de polinización controlada fueron utilizadas en el estudio de la variación de porcentajes de grasa en las semillas de cacao. El análisis de los resultados no permitió detectar diferencias significativas entre las plantas de un mismo clon. Se encontró una correlación positiva y significativa ( $r = 0,56$  a  $0,66$ ) entre el peso seco de las semillas y los porcentajes de grasa, calculada basándose en los totales de las muestras de cada uno de los clones. Las determinaciones en semillas individuales mostraban correlaciones bajas y muchas veces sin significación. La variabilidad observada, en lo que se refiere a porcentajes de grasa en las semillas obtenidas en los diferentes cruzamientos, y también dentro de un solo fruto, llegó a un máximo de 8 por ciento.

Tanto el efecto del polen, como el del clon materno, resultaron en diferencias significativas con relación a porcentajes de grasa. Las determinaciones en semillas individuales mostraron diferencias considerables entre los diversos cruzamientos en lo que respecta a la variación del carácter, mientras que los recíprocos revelaron

una amplitud semejante de variación. Estas observaciones indican que el genotipo del cigoto podrá ser el factor principal en la determinación de los porcentajes de grasa de las semillas.

### Literature cited

- 1 ALVARADO, R and BULLARD, E. T. Variation of bean characteristics in hybrid cacao progenies. Proceedings of the American Society for Horticultural Science Caribbean Region 5:105-111. 1961.
- 2 BAUMAN, I. F., CONWAY, T. F. and WARTSON, S. A. Inheritance of variations in oil content of individual corn (*Zea mays* L.) kernels. Crop Science 5: 137-138. 1963.
- 3 CONWAY, T. F. and EARLE, F. R. Nuclear magnetic resonance for determining oil content of seed. Journal of the American Oil Chemist's Society 40:256-268. 1963.
- 4 TOXOPEUS, H. Studies on inheritance of butterfat content. In Cocoa Research Institute of Nigeria, Annual Report 1968-1969. pp. 105-108.
- 5 ——— and JACOB, V. J. Pod and bean value studies on hand pollinated pods. In Cocoa Research Institute of Nigeria, Annual Report 1967-1968. pp. 49-51.
- 6 ——— and WESSEL, M. Studies on pod and bean values of *Theobroma cacao* L. in Nigeria I. Environmental effects on West African Amelonado with particular attention to annual rainfall distribution. Netherlands Journal of Agricultural Science 18: 132-139. 1970.
- 7 VELLO, F., GARCIA, J. R. and MAGALHÃES, W. S. Produção e seleção de cacauzeiros híbridos na Bahia. Revista Theobroma 2:15-35. 1972.
- 8 WIGGALL, P. H., INCE, A. D. and WALKER, E. The rapid determination of fat in chocolate and related products using low resolution nuclear magnetic resonance. Journal of Food Technology 5: 353-362. 1970.

# Efecto del encalado sobre las cargas eléctricas y otras propiedades químicas de tres inceptisoles de Costa Rica<sup>\*1/</sup>—

A M DE ALMEIDA\*\*, E BORNEMISZA\*\*\*

## ABSTRACT

*The effects of liming on three surface soils from the Atlantic region of Costa Rica, two typic Dystrypepts (Colorado and Instituto series) and a typic Humitropept (Paraiso series) was studied in the greenhouse. The effects of five levels of liming on pH, exchange acidity, ZPC, soil electric charges, dry matter production and P absorption was determined.*

*The soils were incubated with the lime treatments for 30 days. The indicator plant was sorghum and it was cut after 25 days and twice again after 4 week periods. The dry matter produced and the P. absorbed were determined for each harvest.*

*The plants received a complete fertilizer treatment before planting. Nitrogen was applied after the first harvest and a complete fertilizer treatment but half the original amount, after the second harvest.*

*The soils were sampled and analysed before liming, after the incubation period and at the end of the experiment.*

*It was found that all lime applications resulted in significant pH increases, in highly significant decreases of exchange acidity, a small increase in the ZPC and of the net electric charges of the soil. The positive charges decreased and the negative charges increased. There was also an increase of dry matter production with the first levels of liming and of P absorption.*

*The most adequate liming level in conditions of the present experiment was three times exchangeable Al.*

*The pH level corresponding to maximum production and P absorption was between 5.2 and 5.4. This shows that it might not be necessary to reach pH 5.5, as usually suggested, for optimum results. However, pH 5.5 should not be surpassed.*

*For the inceptisols studied the ZPC values are in a range where liming practices as suggested above do not affect it adversely, as long as liming is practiced in accordance to exchangeable Al levels.*

## Introducción

**M**UCHOS suelos del trópico húmedo se caracterizan por un complejo de cambio dominado por cargas dependientes del pH, hecho poco común en suelos de regiones templadas cuyos coloides tienen principalmente cargas permanentes (14, 24, 25, 26).

\* Recibido para la publicación el 29 de agosto de 1977.

<sup>1/</sup> Este trabajo contiene parte de la tesis de MS del primer autor, presentado al Programa de Posgrado en Ciencias Agrícolas UCR-CATIE.

\*\* Prof. Escola de Agronomia de Univ. Fed. de Paraíba, Areia, Pb. Brasil.

\*\*\* Catedrático Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria, San José, Costa Rica.

La carga variable o dependiente de pH en la fracción inorgánica de suelo se debe a los óxidos e hidróxidos amorfos de Fe, Al y Si; la superficie de estos minerales contiene iones no completamente coordinados y por esto la superficie está cargada eléctricamente (18). Además de estos minerales, otros materiales se comportan en forma similar debido a mecanismos de formación de cargas semejantes (arcillas tipo 1:1, alofana y otros materiales amorfos) (25).

Como estas cargas regulan el intercambio de iones en los suelos su conocimiento es importante ya que influyen sobre los procesos pedológicos y el manejo adecuado del suelo. Por este motivo se debe conocer la magnitud y el signo de las cargas variables para asegurar el manejo adecuado del suelo (14, 25, 26).



Se conoce que la capacidad de intercambio catiónica (CIC) medida al pH del medio edáfico puede diferir de la capacidad de intercambio medida a pH constante y está sujeta a fluctuaciones considerables. Sin embargo la CIC determina en un momento dado la totalidad de cationes retenidos.

Según Van Raij y Peech (26) y Summer (23), los métodos comunes para determinar la CIC no representan la condición de suelos con cargas variables por dos razones; primero, se determina usualmente a un valor arbitrario de pH que no se relaciona con el valor natural de pH encontrado en condiciones de campo; segundo, el uso de alcohol o agua para remover el exceso del electrolito saturante, que también es común en los métodos, causa un desprendimiento de cationes, falsificando así los datos.

Uehara y Keng (25) mencionan que el conocimiento del punto de carga cero (ZPC) o punto isoeléctrico y de las cargas netas del suelo es importante para el manejo del mismo. Estos autores indican que los métodos descritos por Van Raij y Peech (26) son adecuados para la determinación de estas variables en suelos que contienen cantidades apreciables de minerales con cargas dependientes del pH.

Según Lyklema, citado por Uehara y Keng (25), la aplicación de cal a los suelos oxidicos, puede resultar en la floculación o dispersión, dependiendo de si el encalamiento cambia la carga superficial efectiva de positiva a cero (floculación), o de cero a negativa (dispersión). En general, la cal no dispersa los suelos cao-liníticos-oxidicos, porque, aunque permite el desarrollo de cargas superficiales, ella no crea necesariamente cargas efectivas, especialmente a pH-s bajos.

Con miras a obtener datos sobre suelos con diferentes contenidos de materiales amorfos de Costa Rica se realizó el presente trabajo.

#### Materiales y métodos

##### Suelos

Los suelos utilizados en el ensayo corresponden a los horizontes superficiales (0-15 cm) de tres series de suelos de la Vertiente Atlántica de Costa Rica: Colorado (Typic Dystropept, muy fino, mixto, isohyper-térmico), Instituto (Typic Dystropept, fino, mixto, isohyper-térmico) y Paraíso (Typic Humitropept, muy fino, mixto, isotérmico) (2,16).

Las características químicas de los tres suelos antes del encalado se presentan en el Cuadro 1.

##### Estudio de Invernadero

Se estableció un experimento de invernadero utilizando macetas con capacidad de tres kilogramos. Los suelos fueron previamente incubados con cal, según las dosis presentadas en el Cuadro 2, por un período de 30 días.

Cuadro 1.—Características químicas de los suelos antes del encalado

Determinación	Suelo		
	Colorado	Instituto	Paraíso
pH en H <sub>2</sub> O	4.9	5.1	4.8
pH en KCl N	4.0	4.3	4.0
M. O. %	5.4	7.4	8.4
C I C meq/100 g	23.4	26.8	30.6
Ca meq/100 g	1.90	2.47	3.08
Mg meq/100 g	1.32	1.40	2.32
K meq/100 g	0.83	0.69	0.45
Na meq/100 g	0.15	0.15	0.19
Acidez interc. meq/100 g	1.63	0.72	1.31
Ca/Mg	1.44	1.76	1.33
Ca/K	2.29	3.58	6.81
Ca + Mg/K	3.88	5.61	12.00

Se aplicó uniformemente antes de la siembra una fertilización básica de N, P, K y elementos menores. Después del primer corte se aplicó una fertilización nitrogenada y después del segundo corte se aplicó una fertilización completa, con la mitad de la dosis de la primera fertilización.

Se utilizaron diez plantas por maceta de sorgo (*Sorghum bicolor*) como planta indicadora. Se efectuaron tres cortes de la parte aérea de las plantas; el primero a los 35 días después de la siembra, el segundo y tercero cortes espaciados 28 días respectivamente. Se determinó la producción de materia seca y absorción de fósforo por las plantas.

Para evaluar los cambios químicos ocurridos en los suelos, por el encalado, se realizaron dos muestreos del suelo, retirando muestras en todas las macetas: el primero después del período de incubación con cal y el segundo al finalizar el experimento.

##### Requerimiento de cal

Los requerimientos de cal fueron determinados usando dos métodos; curva de titulación de Abruña y Vicente-Chandler (1) y acidez intercambiable de Kamprath (13).

Cuadro 2—Cantidad de Ca en meq/100 g de suelo, correspondiente a los diferentes tratamientos

Tratamiento	Colorado	Instituto	Paraíso
	Meq de Ca/100 g suelo		
0	—	—	—
1 Acidez interc. x 1,5	2,5	1,0	2,0
2 Acidez interc. x 3,0	5,0	2,0	4,0
3 Promedio de 2 y 4	6,5	4,0	6,5
4 Dosis para pH 6,5	8,0	6,0	9,0

*Diseño experimental y tratamientos*

Las macetas se arreglaron en el invernadero de acuerdo a un diseño irrestrictamente al azar con cinco repeticiones.

*Análisis químicos de suelos*

Los análisis químicos se efectuaron en muestras secas al aire y tamizadas al tamaño requerido por cada método.

*Reacción del suelo (pH)*

Se efectuó por la técnica descrita por Saiz del Río y Bornemisza (19). Se determinó en agua y en KCl 1 N, usando la relación suelo-agua 1 : 2,5.

*Acidez intercambiable*

Se determinó por el método descrito por Kamprath (13). Se usó KCl 1N para la extracción y se tituló con hidróxido de sodio 0,01 N.

*Punto de carga cero (ZPC) o punto isoeléctrico*

Esta determinación se hizo según el método descrito por Van Raij y Peech (26), modificado por Uehara y Keng (25). El ZPC se determina por el punto de intersección de las curvas de titulación obtenidas con muestras suspendidas de suelos en cuatro diferentes concentraciones de cloruro de sodio (NaCl) con adiciones de diferentes concentraciones de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio.

*Cargas eléctricas del suelo*

Se utilizó para esta determinación la técnica descrita por Van Raij y Peech (26). Este método se basa en la determinación de las cargas positivas y negativas del suelo por retención directa de iones. Estas cargas fueron determinadas en soluciones de NaCl, CaCl<sub>2</sub> y MgSO<sub>4</sub> en diferentes concentraciones. La carga neta se calculó por la suma algebraica de las cargas positivas con las negativas.

*Análisis de los tejidos vegetales*

Las muestras de materia seca fueron molidas en un molino tipo Wiley, y se les pasó por un tamiz de 20 mallas. La digestión de la materia seca se efectuó con una mezcla de ácido nítrico y perclórico en relación 5 : 1, según las recomendaciones descritas por Jackson (12). El fósforo se determinó colorimétricamente usando la mezcla sulfomolibdica indicada por Jackson (12).

*Análisis estadístico*

Los resultados obtenidos en el experimento fueron sometidos a análisis de varianza y análisis de regresión para determinar la relación causa-efecto entre las variables estudiadas. Además se probaron contrastes ortogonales para observar los efectos del encalado en los diferentes tratamientos.

*Resultados y discusión**Estudios de encalado**Efecto en el pH y en la acidez intercambiable*

En las figuras 1 y 2 se representan los efectos de las diferentes dosis de cal aplicadas y los valores de pH y acidez intercambiable para las dos épocas de muestreo. En ellas, se observa un aumento lineal del pH con dosis creciente de cal en forma similar como lo observaron Soares *et al* para suelos en Brasil (21).

Se observó que el encalado calculado para elevar el pH a 6,5 solamente provocó un ligero cambio; en el suelo Colorado de 4,8 a 5,6; en el suelo Instituto de 4,9 a 5,7 y en el suelo Paraíso de 4,7 a 5,4. Este hecho se explica por el alto poder amortiguador que los Inceptisoles presentan como lo encontraron otros autores (5, 11).

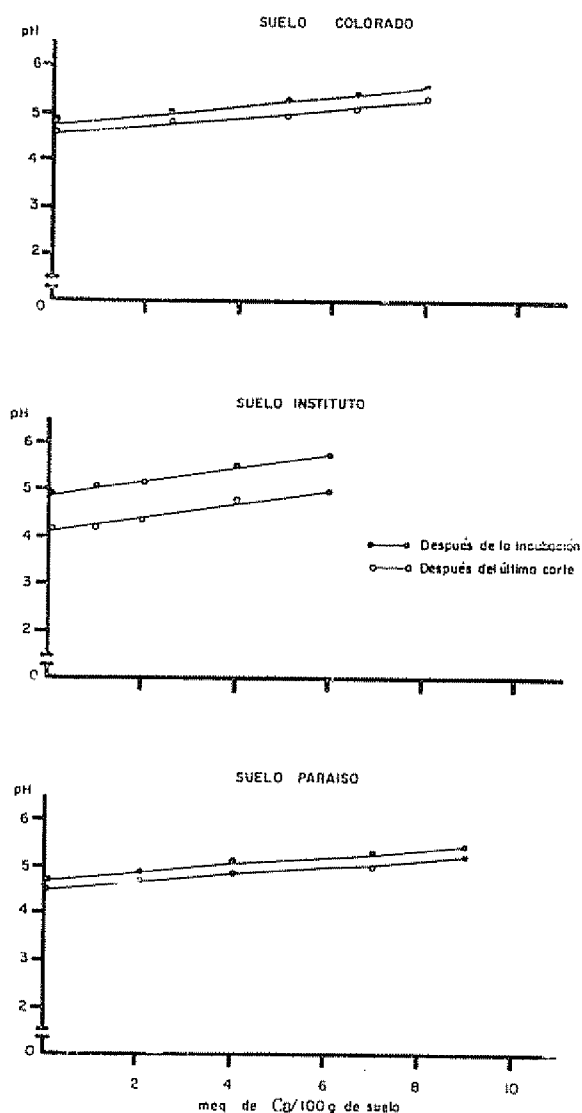


Fig. 1.—Influencia de encalado en la reacción del suelo (pH) correspondiente a los dos muestreos

Uehara y Keng (25) y Van Raij y Peech (26) afirman que esto ocurre porque parte de la cal añadida al suelo se utilizó en el desarrollo de cargas negativas que luego absorben más cal. Este hecho explica la capacidad amortiguadora sumamente alta observada aquí y en general en los suelos de carga variable (5).

Se notó que la dosis correspondiente a tres veces la acidez intercambiable (tratamiento 2) prácticamente neutraliza la acidez de intercambio en el suelo (Fig. 2). Esta cantidad, según Kamprath (13), sería la dosis más adecuada para encalado de algunos suelos en los trópicos, principalmente Oxisoles y Ultisoles.

Por otra parte, Amadee y Peech (3, 4) informan que las cantidades de Al extraíble por KCl 1N no re-

presenten las propiedades intrínsecas de todos los suelos ácidos de los trópicos, de modo que la necesidad de cal basada en esta metodología no es la más adecuada para algunos suelos, lo que no coincide con lo encontrado en este trabajo, probablemente debido a que los citados autores trabajaron con suelos muchos más meteorizados que los usados en el trabajo presente.

En los resultados del muestreo final se observa que hubo una disminución del pH y un aumento de la acidez intercambiable, con relación al muestreo después del período de incubación con cal (Fig. 2). Según varios autores (6, 17, 25) esto puede ser ocasionado por el uso de fertilizantes de carácter ácido o por la capacidad de reemplazo de Al intercambiable, siendo posiblemente este último el factor principal.

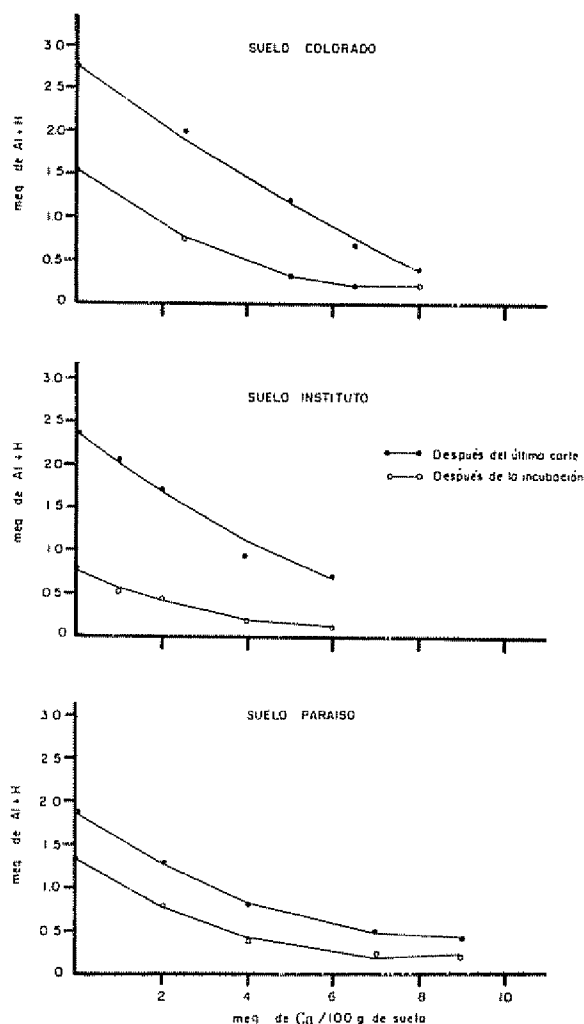


Fig. 2.—Influencia del encalado en la acidez del suelo correspondiente a los dos muestreos

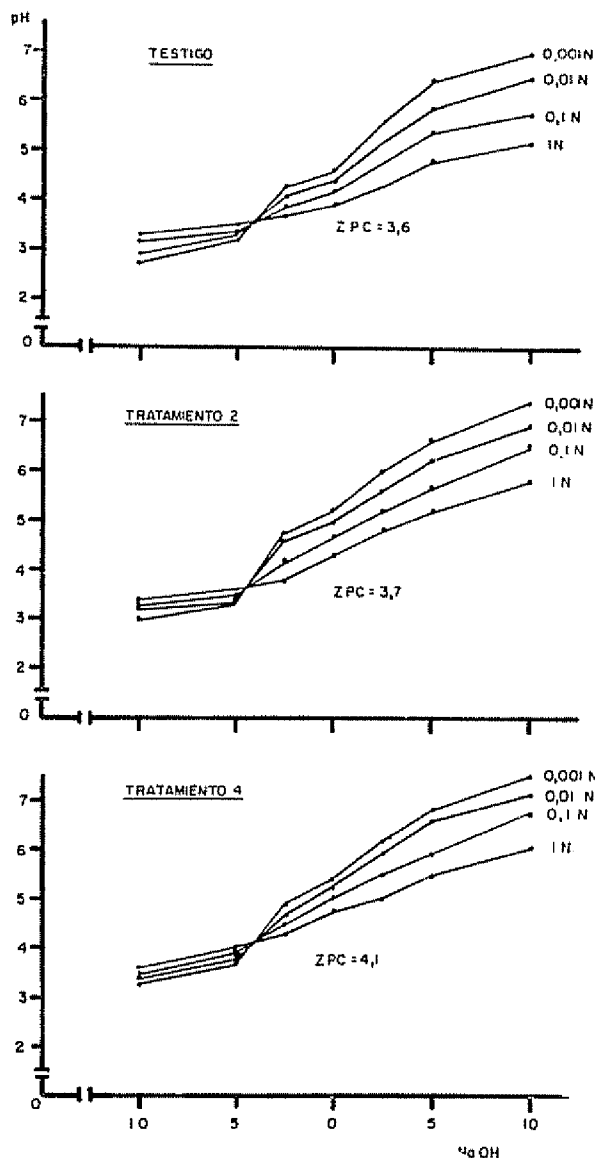


Fig 3.—Curva de titulación potenciométrica en diferentes concentraciones de NaCl y determinación del ZPC, suelo Colorado

Efecto sobre el punto de carga cero (ZPC)

En las Figuras 3,4 y 5 se representan las curvas de titulación potenciométrica y el valor del ZPC para los tres suelos estudiados. En ellas se puede observar que el pH correspondiente al ZPC cambia muy poco con las dosis de cal, siendo estos cambios de 0,7 unidades para Colorado y 0,4 unidades para Instituto y Paraiso.

Para algunos tratamientos, existe una incertidumbre en la posición exacta del ZPC, dentro de décimos de pH. Como se nota en la Figura 5, lo mismo fue observado por Keng y Uehara (14) y Van Raij y Peech (26) en Oxisoles y Ultisoles en los trópicos. Según los últimos autores, las curvas no interceptan en el cero de titulación debido al Al intercambiable en

las muestras equilibradas del suelo. Para evitar este problema algunos autores recomiendan lavar el suelo con una solución de ácido clorhídrico, lo que no está de acuerdo con Uehara y Keng (25) y no fue practicado aquí ya que representa un cambio del sistema en estudio.

De acuerdo con los valores obtenidos para el ZPC se puede afirmar que para todos los tratamientos, su valor se encuentra por debajo del pH de suelo en H<sub>2</sub>O, y por lo tanto el pH en KCl 1N será más bajo que el pH en agua. Esto coincide con los resultados encontrados por Van Raij y Peech (26), Keng y Uehara (14) y El-Swaify y Sayegh (8) (ver datos en Cuadro N° 1). En esta condición se puede aconsejar las prácticas de encalado, con miras a aumentar las cargas eléctricas negativas del suelo y así disminuir la lixiviación de bases, además de precipitar los iones Al.

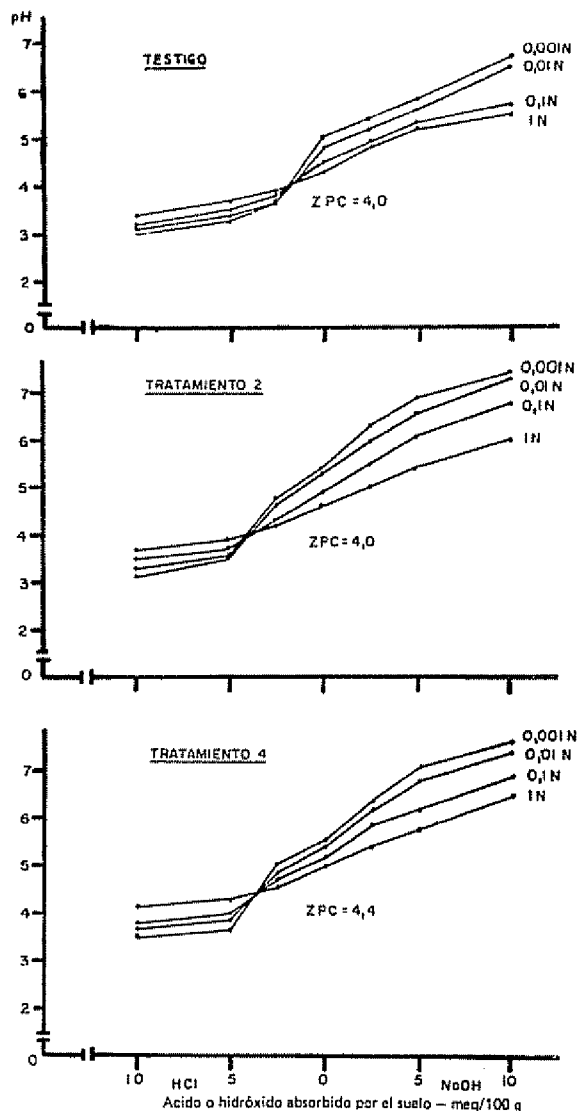


Fig 4.—Curva de titulación potenciométrica en diferentes concentraciones de NaCl y determinación de ZPC, suelo Instituto

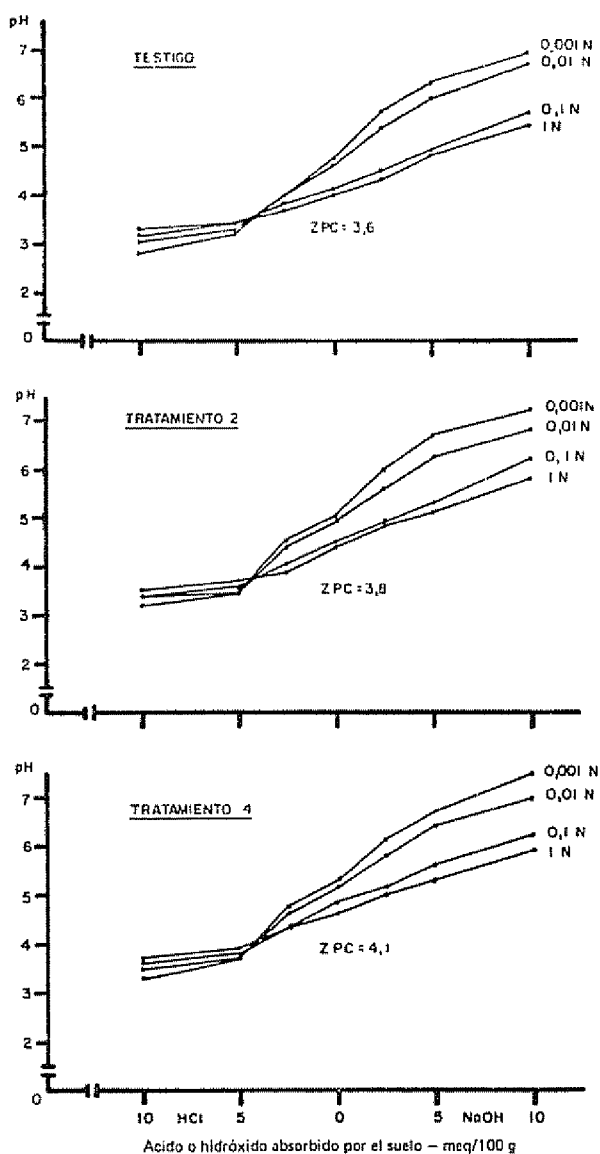


Fig. 5.—Curva de titulación potenciométrica en diferentes concentraciones de NaCl y determinación del ZPC, suelo Panalzo.

#### Efecto en las cargas eléctricas del suelo

En los cuadros 3, 4 y 5 se presentan los valores y los signos de las cargas eléctricas de los suelos determinadas por absorción directa de iones en diferentes concentraciones de NaCl, CaCl<sub>2</sub> y MgSO<sub>4</sub>, respectivamente.

Los resultados muestran que ambas cargas positivas y negativas coexisten en estos suelos y que las negativas aumentan a medida que se elevan las dosis de encalado. Se observa que al disminuir la concentración del electrolito desplazante, disminuye la magnitud de

ambas cargas en el sistema coloidal del suelo. Esto concuerda con lo reportado en los trabajos de El Swaify y Sayegh (8), Sumner y Davidtz (24) y Van Raij y Peech (26).

Se observó que para el testigo de los tres suelos hay predominio de cargas positivas, pero que los encalados resultan en predominio de cargas negativas. De esta manera, se explica el gasto de la cal en el desarrollo de cargas negativas, su movilidad reducida y su efecto reducido sobre el pH de los suelos.

Uehara y Keng (25) mencionan que las cargas negativas son balanceadas por los iones de calcio en el sitio donde la cal fue aplicada y por esta razón muy poca cal aplicada va al subsuelo. Al mismo tiempo, el aumento de carga negativa explica la mejor retención de cationes observada como resultados del encalado.

Los datos obtenidos para la magnitud de las cargas eléctricas del suelo, con el uso de diferentes concentraciones de electrolitos, indican que los valores obtenidos con solución de CaCl<sub>2</sub> 0,1 N sin lavado del exceso del electrolito, indican la capacidad de intercambio de los suelos estudiados. De esta manera, el método anterior podría sustituir las técnicas tradicionales para determinar la capacidad de intercambio catiónico.

En general, la cantidad de cargas positivas y negativas determinadas con electrolitos divalentes es más alta que aquella obtenida con los monovalentes (NaCl), aún cuando en ambos, el cation y el anión son divalentes. Según Fassbender (10) estas observaciones son consistentes con la teoría de aumento de diámetro del ión y la disminución de su agua de hidratación.

#### Efecto del encalado sobre la biomasa y la absorción de fósforo

En las Figuras 6 y 7 se presentan la producción de materia seca y absorción de fósforo por las plantas para cada uno de los tres cortes. Se observa en ellas una tendencia semejante para los tres suelos, tanto en lo que se refiere a biomasa como cantidad de fósforo absorbido. Esto evidencia en estos suelos el papel esencial del fósforo y resalta la importancia del encalado como factor que influye en el proceso en forma positiva a los primeros niveles de aplicación. Se notó también un efecto adverso de la dosis de cal más altas.

Estas observaciones confirman la necesidad de encalado a niveles moderados para los tres suelos estudiados y advierten el peligro de un sobreencalado. Este hecho concuerda con el observado por varios autores en condiciones tropicales (5, 11, 15, 21, 22).

Considerando conjuntamente los tres suelos, se puede indicar que la máxima producción de materia seca y la absorción de fósforo se obtiene a un pH entre 5,2 y 5,4. Estos valores difieren muy poco de los encontrados por Fassbender y Molina (11) en Inceptisoles de Costa Rica.

Cuadro 3.—Adsorción de sodio, cloruro y carga neta de los suelos.

Suelo	Trat.	pH*	Cargas, meq/100 g de suelo					
			Positiva		Negativa		Total	
			(Cl adsorbido)		(Na adsorbido)		(cargas netas)	
			0.1 N	0.2 N	0.1 N	0.2 N	0.1 N	0.2 N
Colorado	0	4,8	15,4	23,1	13,9	21,1	+1,5	+2,0
	2	5,2	14,5	20,1	15,0	23,5	-0,5	-3,4
	4	5,6	13,2	18,8	17,1	24,3	-1,2	-5,5
Instituto	0	4,9	15,0	22,8	13,2	20,4	+1,8	+2,4
	2	5,1	14,1	20,6	13,7	21,1	+0,4	-0,5
	4	5,7	12,6	19,5	16,5	24,3	-3,9	-4,8
Paraíso	0	4,7	17,2	24,4	15,3	22,3	+1,9	+2,1
	2	5,0	15,6	23,8	17,6	26,3	-2,0	-2,5
	4	5,4	15,1	21,8	19,9	28,0	-4,8	-6,2

\* pH de equilibrio

Cuadro 4.—Adsorción de calcio, cloruro y carga neta de los suelos.

Suelo	Trat	pH*	Cargas, meq/100 g de suelo					
			Positiva		Negativa		Total	
			(Cl adsorbido)		(Ca adsorbido)		(cargas netas)	
			0.01 N	0.1 N	0.01 N	0.1 N	0.01 N	0.1 N
Colorado	0	4,8	6,4	15,8	6,0	12,4	+0,4	+3,4
	2	5,2	5,9	13,1	7,6	15,6	-1,7	-2,5
	4	5,6	5,7	11,4	8,6	16,0	-3,9	-4,6
Instituto	0	4,9	6,9	15,2	5,8	12,1	+1,1	+3,1
	2	5,1	6,2	14,3	7,8	16,2	-1,6	-1,9
	4	5,7	5,0	12,8	9,2	18,2	-4,2	-5,4
Paraíso	0	4,7	6,3	15,8	5,6	14,2	+1,6	+3,2
	2	5,0	5,7	15,2	8,9	20,0	-3,2	-4,8
	4	5,4	5,4	14,7	10,7	21,3	-5,3	-6,8

\* pH de equilibrio

Cuadro 5.—Adsorción de magnesio, sulfato y carga neta de los suelos

Suelo	Trat	pH*	Cargas, meq/100 g de suelo					
			Positiva		Negativa		Total	
			(SO <sub>4</sub> adsorbido)		(Mg adsorbido)		(cargas netas)	
			0.001 N	0.01 N	0.001 N	0.01 N	0.001 N	0.01 N
Colorado	0	4,8	4,7	11,3	7,7	8,3	+3,0	+3,0
	2	5,2	3,9	8,1	9,2	14,7	-5,3	-6,6
	4	5,6	3,0	7,8	10,2	15,6	-7,2	-7,8
Instituto	0	4,9	4,4	10,3	5,9	8,4	+1,5	+1,9
	2	5,1	3,9	9,7	8,3	14,8	-4,4	-5,1
	4	5,7	3,1	8,8	9,8	16,0	-6,6	-7,2
Paraiso	0	4,7	4,7	12,9	10,0	8,7	+1,9	+4,2
	2	5,0	3,9	11,4	12,0	17,7	-5,1	-6,3
	4	5,1	2,5	11,0	13,5	19,0	-7,8	-8,0

\* pH de equilibrio

Se concluye que la máxima producción de materia seca y absorción de fósforo coinciden con la dosis intermedias de encalado equivalente a tres veces la acidez intercambiable, que han sido las dosis necesarias para alcanzar estos pH-s. Se observa también que encalados que eleven el pH a valores superiores a 5,5, punto en el cual no se encuentra Al intercambiable, no contribuyen a mejores rendimientos. Se vuelve de esta manera a confirmar que para suelos del tipo de los estudiados aquí, al igual que para muchos otros suelos del trópico, es suficiente y adecuado llegar a pH-s ligeramente inferiores a 5,5 y que no se debe sobrepasar este valor.

#### Resumen

Se estudió el efecto del encalado en el pH, acidez intercambiable, punto de carga cero (ZPC) o punto isoelectrico, cargas eléctricas, producción de materia seca y absorción de P en tres suelos de la Vertiente Atlántica de Costa Rica: Colorado e Instituto (Typic Dystropepts) y Paraiso (Typic Humitropept)

Las muestras de suelos correspondientes a la parte superficial (0 - 15 cm), se sometieron a incubación previa con cal por un período de 30 días. Se estableció un experimento de invernadero, utilizando como planta indicadora el sorgo (*Sorghum bicolor*) y se efectuaron tres cortes de la parte aérea de las plantas, el primero a los 35 días después de la siembra, el segundo y tercero espaciados por 28 días respectivamente, evaluándose la producción de materia seca y la absorción de P

Se hizo una fertilización básica de N-P-K y elementos menores antes de la siembra, una nitrogenada

después del primer corte y otra completa pero usando la mitad de la dosis iniciales, después del segundo corte

Para evaluar los cambios químicos ocurridos en el suelo durante el experimento se efectuaron tres muestreos, el primero antes del encalado, el segundo después del período de incubación con cal y el tercero al finalizar el experimento.

Los resultados indican que el uso del encalado provocó un aumento altamente significativo del pH; una disminución altamente significativa de la acidez intercambiable; un ligero aumento del ZPC; un cambio en las cargas eléctricas netas del suelo, disminuyendo las cargas positivas y aumentando las cargas negativas; un incremento en la producción de materia seca y en la absorción de fósforo por las plantas, los últimos correspondiendo a los niveles bajos de encalado.

La cantidad más adecuada de cal aplicada bajo las condiciones de este experimento equivale a la concentración de Al intercambiable multiplicada por el factor tres.

El ámbito de pH que corresponde a la máxima producción y absorción de fósforo varía entre 5,2 y 5,4 lo que indica que el pH recomendable no necesariamente tiene que alcanzar el valor de 5,5 como comúnmente se sugiere.

Para los Inceptisoles estudiados los valores del ZPC se encuentran en un ámbito donde su determinación no es crítica para las prácticas de encalado, la cual se puede realizar en base a las cantidades de Al intercambiable presente

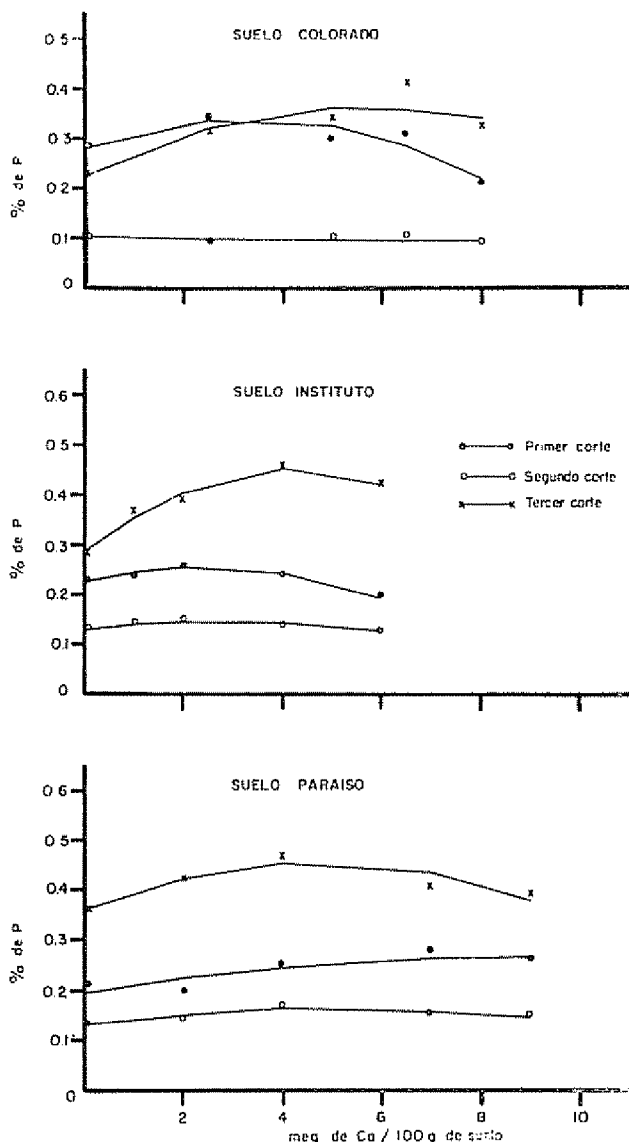


Fig 6—Influencia del encalado en la producción de materia seca correspondiente a la suma de los tres cortes del cultivo

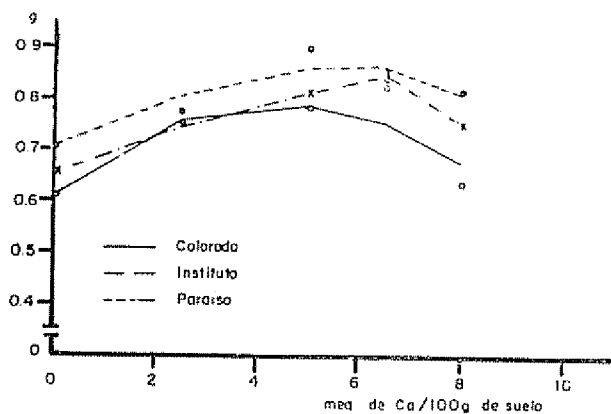


Fig 7—Influencia del encalado en la absorción de fósforo por las plantas correspondientes a la suma de los tres cortes de cultivo

Literatura citada

- 1 ABRUÑA, F R. y VICENTE CHANDLER, J Refinement of quantitative method for determining the lime requirements of soils *Journal of Agriculture of Puerto Rico* 39 (1): 41-45 1955.
- 2 AGUIRRE, A V. Estudio de los suelos del área del Centro Tropical de Enseñanza e Investigación, IICA, Turrialba, Costa Rica. Tesis Mag Sc Turrialba, Costa Rica, IICA, 1971 138 p
- 3 AMEDEE, G y PEECH, M Liming of highly weathered soil of the humid tropics *Soil Science* 121 (5): 259-266 1976.
- 4 ———, y PEECH, M. The significance of KCl extractable Al (III) as an index to lime requirement of soils of the humid tropics. *Soil Science* 121 (4): 227-233 1976
- 5 BORNEMISZA, E, IAROCHE, F A y FASSBENDER H W Effects of liming on some chemical characteristics of a Costa Rican latosol *Soil and Crop Science Society of Florida Proceedings*, 27: 219-226 1967
- 6 COLEMAN N T y THOMAS, G W The basic chemistry of soil acidity and liming *In* Pearson, R. W y Adams, F, eds *Soil acidity and liming* Madison, Wise, America Society of Agronomy, 1967 pp 1-41 (Series Agronomy, N° 12)
- 7 EL-SWIFY, S A. Structural changes in tropical soil due to anions in irrigation water *Soil Science* 115(1): 64-72 1973
- 8 ———, y SAYECH, A H Charges characteristics of an oxisol and an inceptisol from Hawaii. *Soil Science* 120 (1): 49-56 1975
- 9 ESPINOZA, W, GAST, R G y ADAMS, R S, Jr Charge characteristics and nitrate retention by two andepts form south Central Chile. *Soil Science Society of America Proceedings* 39(5): 842-846 1975
- 10 FASSBENDER, H W *Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina* Turrialba, Costa Rica, IICA, 1975 pp 168-208
- 11 ——— y MOJINA, R Influencia de enmiendas calcáreas y silicatada: sobre el efecto de fertilizantes fosfatados en suelos derivados de cenizas volcánicas de Costa Rica *In* Panel sobre Suelos Derivados de Cenizas Volcánicas de América Latina, Turrialba, Costa Rica, 1969, pp c 21 - c 2-12
- 12 JACKSON, M L *Análisis químico de suelos* Traducido por José Beltrán Martínez Barcelona, Omega, 1964 662 p
- 13 KAMPRATH, E J Acidez del suelo y su respuesta al encalado Raleigh, N C., Estación Experimental Agrícola, Proyecto Internacional de Análisis de Suelos Boletín N° 4 1967. 22 p
- 14 KENG, J y UEHARA, G Chemistry, mineralogy, and taxonomy of oxisols and ultisols. *Soil and Crop Science Society of Florida Proceedings* 33: 119-126 1974
- 15 IAROCHE, F A Efeitos da calagem sobre o complexo de troca de um latosolo tropical e os teores de cation: absorvidos pelo tomate Tesis Mag Sc Turrialba, Costa Rica, IICA, 1966 76 p



16. MACIAS, M. V. Propiedades morfológicas, físicas, químicas y clasificación de ocho "Latosoles" de Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1969. 193 p.
17. MARTIN, J. A. *et al.* Response of soybeans to liming as related to soil acidity, Al and Mn toxicities and P in some oxisols of Brasil. Soil Science Society of America Proceedings 38(4):616-620. 1974.
18. PARKS, G. A. The isoelectric points of solid oxides, solid hydroxides, and aqueous hydroxo complex systems. Chemical Review 65:177-198. 1965.
19. SAIZ DEL RIO, J. F. y BORNEMISZA, E. Análisis químico de suelos, métodos de laboratorio para diagnóstico de fertilidad. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1961. 107 p.
20. SCHOFIELD, R. K. Effect of pM on electric charges carried by clay particles. Journal of Soil Science 1(1): 1-18. 1949.
21. SOARES, W. B. *et al.* Encalado de los suelos del Ceará Brasileño. In Bornemisza, E. y Alvarado, A. eds. Manejo de suelos en la América Latina. Tropical Raleigh, North Carolina States University, 1975. pp. 287-302.
22. SPAIN, J. M. *et al.* Diferencias entre especies y variedades de cultivos y partos tropicales en su tolerancia a la acidez del suelo. In Bornemisza, E. y Alvarado, A. eds. Manejo de suelos en la América Tropical. Raleigh, North Carolina State University, 1975. pp. 313-335.
23. SUMNER, M. E. Effect of alcohol washing and pH value of leaching solution on positive and negative charges in ferruginous soils. Nature 198 (8): 1018-1019. 1963.
24. ————— y DAVIDTZ, J. C. Positive and negative charges in some Natal soils. South African Journal of Agricultural Science 8:1045-1050. 1965.
25. UEHARA, G. y KENG, J. Relaciones entre la mineralogía y el manejo de suelos en la América Latina. In Bornemisza, E. y Alvarado, A. eds. Manejo de suelos en la América Tropical. Raleigh, North Carolina State University, 1975. pp. 357-369.
26. VAN RAIJ, B. y PEECH, M. Electrochemical properties of some Oxisols and Ultisols of the tropics. Soil Science Society of America Proceedings 36(4): 587-593. 1972.

# Purification, serology, electron microscopy and properties of the Ampollado Strain of Bean Rugose Mosaic Virus\*—

GUILLERMO E GALVEZ-E \*\*, MOISES CARDENAS-A \*\*, ELLIOT W KITAJIMA\*\*\*, ANTONIO J DIAZ-CH \*\*\*\*, MARIA P NIETO-C \*\*

## COMPENDIO

*La cepa del Mosaico Rugoso del Frijol, denominada Mosaico Ampollado, se aisló de frijoles (Phaseolus vulgaris) en San Andrés, El Salvador. Las plantas infectadas mostraron un mosaico severo con deformación de las hojas y venas, ampollado de las hojas, y formación de enaciones. El virus tuvo un punto termal de inactivación de 70 - 75°C; punto final de dilución de 10<sup>-3</sup>, y longevidad in vitro a temperatura ambiente de 3 días. El virus se purificó de hojas infectadas de frijol por clarificación con 25% cloroformo y 10% alcohol amílico y centrifugación diferencial en tampón fosfato, 0.01M, pH 7.8. En columnas de gradientes de densidad formadas con sacarosa se observaron componentes consistentes de partículas poliédricas ca 25 - 30 nm., que fueron infectivas. In situ, las partículas del virus se encontraron en las vacuolas de las células del parénquima y en el lumen de los vasos cribados y el xilema. Serológicamente el virus reaccionó con antisueños correspondientes al grupo del virus Mosaico Rugoso del Frijol, mostrando ser idéntico al Mosaico Rugoso de Costa Rica, y relacionado con las razas del Mosaico Rugoso de Guatemala y El Salvador. Asimismo reaccionó débilmente con los antisueños de los virus del Moteado de la Vaina del Frijol, y, el Mosaico del Caupe de Arkansas. Sus propiedades lo clasifican en el grupo de los comovirus como una cepa severa del Mosaico Rugoso del Frijol de Costa Rica, y, no como un nuevo virus dentro del mismo grupo.*

### Introduction

SEVERAL viral diseases of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) have been reported in El Salvador: the common mosaic (10), golden mosaic (7), rugose mosaic (8), curly dwarf mosaic (16), bean mild mosaic (18), and an unnamed new virus disease described by Granillo, Díaz, Anaya and Jiménez (10), which has been referred to as the "ampollado" mosaic (blistered mosaic).

This last disease is caused by a virus and produces severe mosaic, leaf deformation similar to 2,4 D damage, blistering of the leaves and dwarfing (10). The virus is readily transmitted mechanically and by the Chrysomelid beetles *Diabrotica balteata* Lec and *Cerotoma ruficornis* Olivier (10). This paper describes its purification and properties which place the virus in the comovirus group as a severe strain (Ampollado strain) of Bean Rugose Mosaic Virus (BRMV-A). Preliminary reports have been published (6, 14).

\* Received for publication. November, 1977

1/ We want to thank Dr. Julio Ospina, and his associates of the Instituto Nacional de Cancerología for the use of the electron microscope facilities.

\*\* Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT, Apartado Aéreo 6713, Cali, Colombia

\*\*\* Departamento Biología Celular, IB, Universidade do Brasilia, D. F., Brasil

\*\*\*\* Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria, CENYA, Santa Tecla, El Salvador

### Material and Methods

#### Virus Isolate and Properties

The virus isolate was obtained from bean plants cv. '27R' which were mechanically infected at the CENYA Experiment Station in Santa Tecla, El Salvador. The

virus was maintained on Guali bean cultivar. Infectivity assays based on local lesions were made on cv. 'ICA-Pijao'.

Properties *in vitro* were determined according to standard procedures. For the seed transmissions tests, seeds from infected 'Guali, 27R' and 'Pijao' were tested. The plants were observed for 40 days after germination.

#### Purification

Fresh leaves of Guali were harvested 2-3 weeks after inoculation. Thirty grams of infected tissue were homogenized in 0.01M EDTA buffer, pH 7.8, and filtered through cheesecloth. The filtrate was emulsified and clarified with 25% chloroform and 10% amyl alcohol (v:v) for 10 min with continuous stirring. The emulsion was broken by centrifuging at 1,100 g for 20 min. The virus in the clear brown supernatant liquid was concentrated by centrifuging at 200,000 g ( $R_{av}$ ) for 45 min. The pellet was resuspended in 3 ml of the buffer and centrifuged at 10,000 g for 15 min.

The virus was further purified by density-gradient centrifugation. Density-gradient columns were made by floating layers of 4, 7, 7 and 7 ml of 100, 200, 300 and 400 mg/ml sucrose in buffer, respectively, in 1 — X 3-inch cellulose nitrate centrifuge tubes which were left standing overnight at 4°C. The viral preparation (2 ml) was floated on a column, which was centrifuged at 60,000 g ( $R_{av}$ ) for 240 min in the SW 25.1 rotor of a Spinco Model L-2 ultracentrifuge at 4°C. Gradients were fractionated and scanned with an ISCO fractionator and densitometer system. The high density fractions were freed of sucrose and the virus concentrated by centrifuging at 200,000 g ( $R_{av}$ ) for 60 min. The virus pellet was resuspended in buffer, centrifuged at 10,000 g for 15 min and used for infectivity, serology and electron microscopy.

#### Electron Microscopy

Negatively stained leaf-dip preparation was obtained by placing a piece of freshly cut infected bean leaves in a drop of neutral phosphotungstic acid.

A drop of the opalescent and infectious zones from the sucrose density gradient column was carefully transferred onto a carbon-Formvar coated grid, washed with distilled water and negatively stained either with neutral phosphotungstic acid or uranyl acetate. The leaf-dip preparation and purified virus suspension were examined in a JEM 7A, or a Zeiss EM 9 electron microscopes.

For *in situ* examination, small pieces of virus-infected bean leaves were fixed in 3% glutaraldehyde, buffered in 0.05M phosphate buffer, pH 7.2, for 1 h at 4°C, and then rinsed thoroughly in the same buffer at 0.2 M. Postfixation was carried out in a solution of 1% OsO<sub>4</sub> in 0.15M phosphate buffer; the fixed tissues were dehydrated in acetone and embedded in Araldite

Blocks were sectioned in a Porter-Blum MT-1 ultramicrotome equipped with an IV-IC diamond knife. Sections were stained with uranyl acetate and lead citrate, and examined in a Zeiss EM 9 electron microscope.

#### Immunization and Serology

Virus antiserum was prepared by immunizing two rabbits once a week with 4-5 mg of virus in 1 ml of suspension emulsified with 1 ml of Freund's incomplete adjuvant. Each rabbit was injected three times intramuscularly with an endovenous injection the second week of immunization. The rabbits were bled five weeks after the first injection. Serological tests were performed using the gel double-diffusion method in plates with wells 5 mm apart in 1% Special agar (Noble) containing 0.6 per cent sodium azide. Titration of the antiserum was done by the microprecipitin and gel double-diffusion tests.

The virus was tested with antisera to 14 legume viruses or strains. They were: Antisera to the bean rugose mosaic virus (BRMV-CR); bean rugose mosaic virus (BRMV-El Sal.); bean rugose mosaic virus (BRMV - Guat); and bean golden mosaic virus (BGMV); and the following which were provided by J. Fulton and H. Scott, quail pea mosaic virus (QPMV); bean rugose mosaic virus (BRMV-Ark antiserum); black gram virus (BGV); cowpea mosaic virus - yellow strain or mild strain - Sb. (CPMV - Sb); cowpea mosaic virus (CPMV Ark); cowpea TMV strain (TMV-CP); southern bean mosaic virus (SBMV); southern bean mosaic cowpea (SBMV) - CU; bean pod mottle virus (BPMV); and bean yellow stipple virus (BYSV).

#### Results

##### Stability *in vitro*

The virus in sap extracted from 'Guali' and bioassayed in 'Pijao' had a thermal-inactivation point of 70° - 75°C after heating for 10 min, a dilution-end point of 10<sup>-1</sup>, and a longevity of 3 days at room temperature (20-22°C).

##### Seed Transmission

Only healthy plants were obtained out of 450 seeds harvested from diseased plants of the cultivars 'Guali', '27-R', and 'Pijao'.

##### Purification

Two opalescent bands at 24.5 and 28.8 mm below the meniscus were seen in rate-zonal density-gradient tubes but when the bands were fractionated and scanned at 254 nm with ultraviolet light, two distinct viral components were resolved (Fig 1). Both components

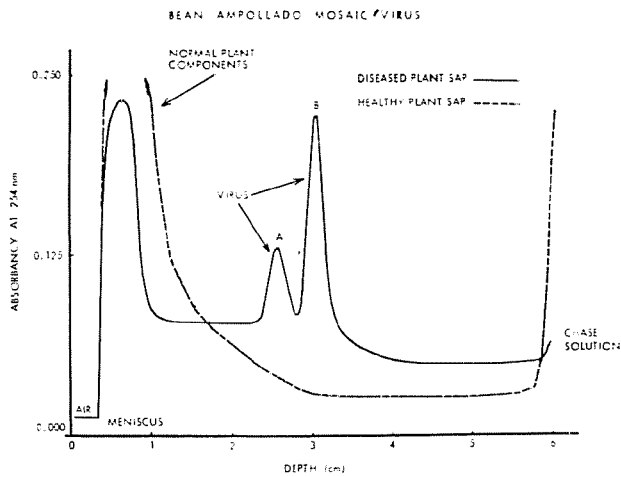


Fig. 1.—Scanning pattern of healthy and BRMV-A infected leaf extracts after chloroform-amyl alcohol clarification, followed by differential and density-gradient centrifugation. Occasionally 3 components were detected.

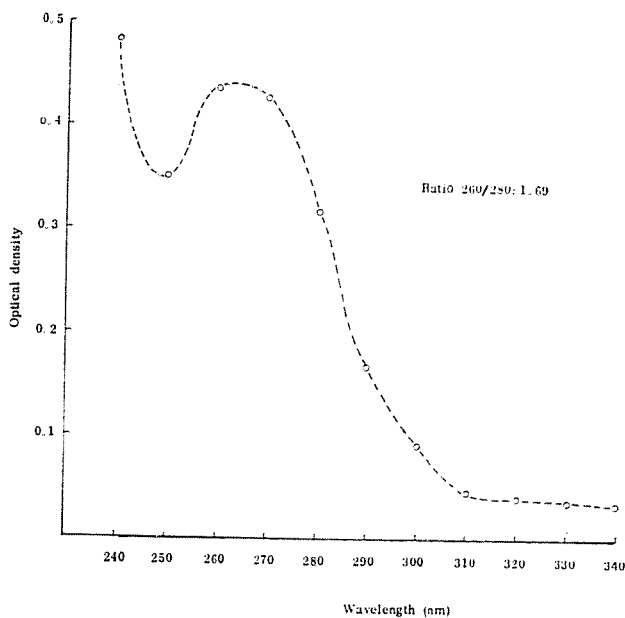


Fig. 2.—Ultraviolet absorption spectrum of purified Bean Rugose Mosaic Virus, "Ampollado strain". (Bottom component).

were infectious, the bottom component being more infectious than the top one. Both components gave an ultraviolet-absorption spectrum typical of nucleoproteins (Fig. 2). The average  $A_{280}/A_{260}$  ratio was  $0.59 \pm 0.1$ , for the bottom component. This value suggested a content of 20-22 per cent RNA. (17). These components were not present in gradients with healthy plant preparations.

### Electron Microscopy

Isometric particles *ca.* 30 nm in diameter could consistently be detected among the cell debris in leaf-dip preparations (Fig. 3, upper insert). In purified preparations, the lighter component was composed mostly by apparently empty particles, in which the stain penetrated the core, resulting in particles with a dense center (Fig. 3, lower insert). The heavier fraction, on the contrary, was formed exclusively by unpenetrated particles (Fig. 3, 4). Both types of particles measured 25-30 nm in diameter. The presence of only a few extraneous materials indicated the degree of the purity of the preparations. When a large number of particles were grouped together, they tended to form regular hexagonal arrays (Fig. 4).

*In situ* observations showed no remarkable alterations of the affected tissues at low magnifications. Cells were usually somewhat shrivelled, but their components apparently had a normal shape and distribution (Fig. 5). Vacuoles usually contained dense specks, while the cytoplasm showed some highly vesiculated areas. When the cells were examined at higher magnifications, the dense vacuolar material was composed of aggregates of dense spheroidal particles, *ca.* 25 nm in diameter (Fig. 6, 7). In some instances a dense amorphous material appeared interspersed with these particles (Fig. 7). These particles were difficult to identify clearly in the cytoplasm, since they are similar in size to the ribosomes, although having a smoother profile. However, in the cytoplasmic areas rich in vesicles, they were seen to form small aggregates, often surrounded by a membrane (Fig. 8). These vesicles ranged in diameter from 0.1 to 0.5  $\mu$ m, usually without visible content, but occasionally containing a thin thread mesh (Fig. 9). Another structure occasionally found associated with BRMV-A infection was a loose bundle of fibrous material about 20 nm thick in the cytoplasm, usually near the aggregate of the vesicles (Fig. 9). The isometric particles were also occasionally seen in both the sieve tubes and xylem vessels (Figs. 10 and 11). In the sieve tube they were found within membrane-bound cavities, while in the tracheid these particles appeared scattered in the vessel lumen.

### Serology and Relationship to other Viruses

Antiserum to the virus had a titer of 1:256. Antiserum of the virus reacted strongly with bean rugose mosaic virus of Costa Rica, and slightly with BRMV

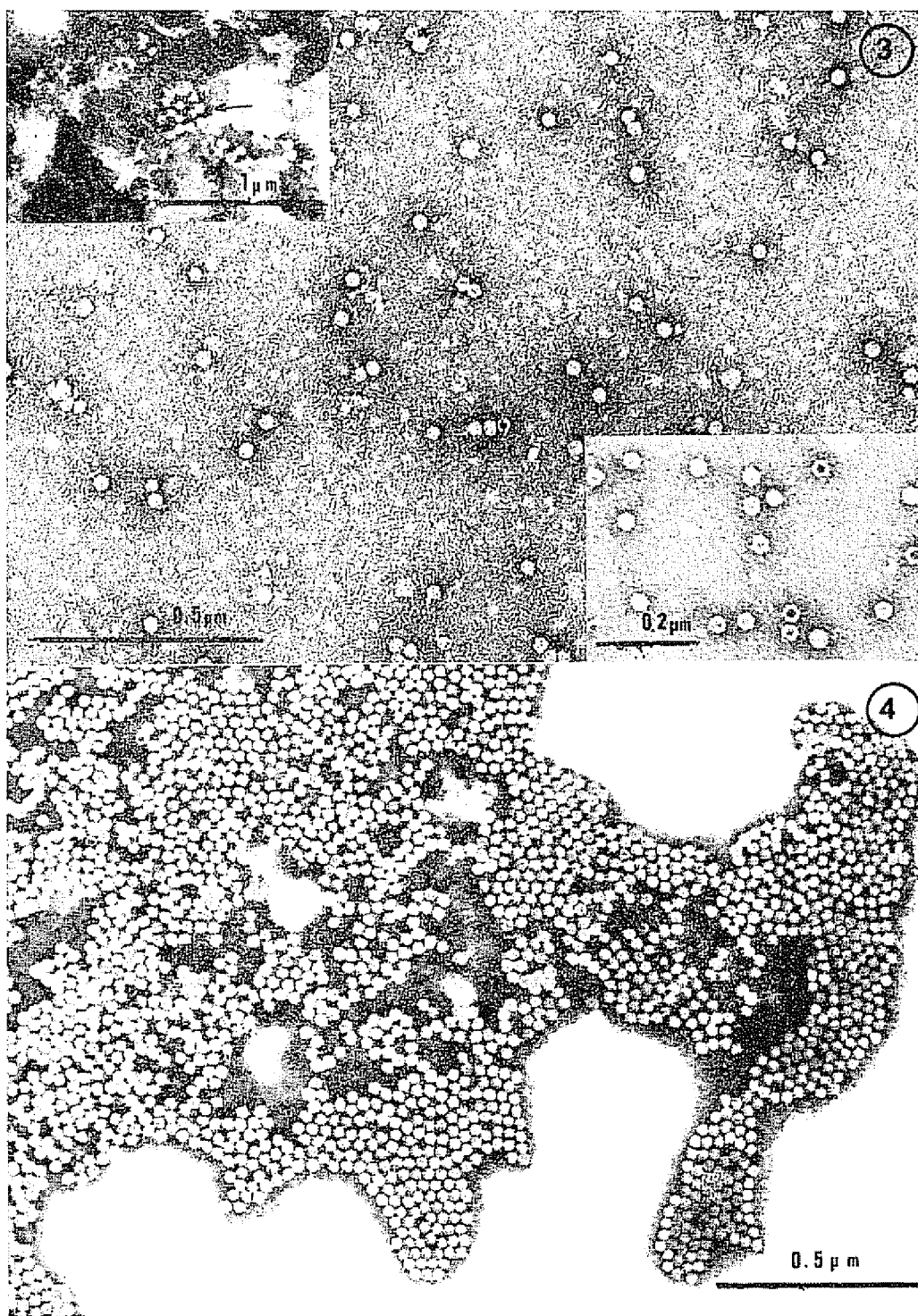


Fig 3—Isometric particles in a highly purified negatively stained preparation of bean rugose mosaic virus ampollado strain. Lower inset exhibits apparently empty capsids, from a lighter, non-infectious zone, after sucrose density-gradient centrifugation. Upper inset shows some isometric particles in a leaf dip preparation.

Fig 4—Similar to Fig 3, but showing a more concentrated preparation, in which particles tend to arrange in a hexagonal array upon drying.

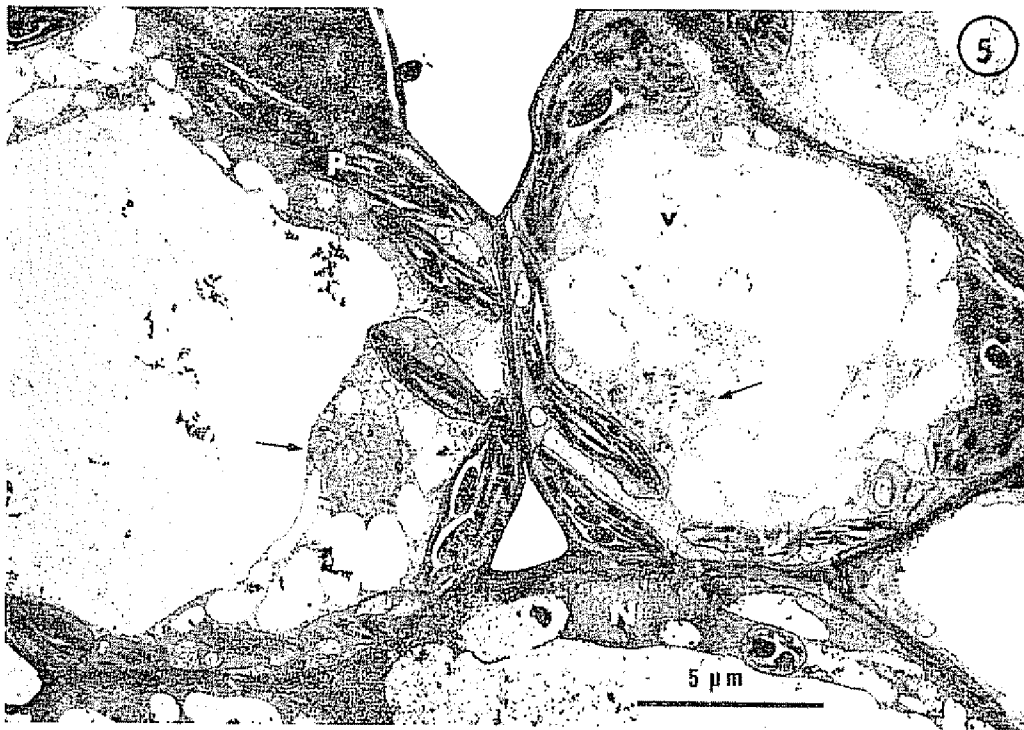


Fig 5—Low magnification view of a spongy parenchyma of bean leaf, infected with BRMV-A. Note that the cells have a normal appearance, except for some cytoplasmic areas rich in vesicles (arrows). Dense specks are noticeable in the vacuole. V—virus particle; N—nucleus; P—chloroplast

of Guatemala and El Salvador. It reacted weakly with bean pod mottle virus and cowpea mosaic virus Arkansas. There was no reaction to normal serum or plant healthy sap.

#### Discussion

Bean ampollado mosaic virus was recorded in bean fields in the San Andrés Experiment Station in El Salvador in 1973 (10). The virus is readily transmitted mechanically and by beetles (10). Infected plants resemble the 2,4 D damage syndrome and produce no yield.

The sap properties of the BRMV-A were close to those of BRMV. Symptoms in *P. vulgaris* resemble those of BRMV, A-1 strain (3); however, in some cultivars the reaction was different. A strong serological reaction was obtained with BRMV of Costa Rica, and less with BRMV of El Salvador and Guatemala. It reacted weakly with bean pod mottle virus and cowpea mosaic virus Arkansas strain. These latter reactions were similar to those reported for the BRMV Costa Rica (8).

The polyhedral particles present in the highly infectious purified preparations must be BRMV-A virions which are similar in size and shape to those of BRMV

(8). The empty particles forming the non-infectious lighter zone in the sucrose density-gradient columns are probably virus particles devoid of nucleic acid. In some instances three components were resolved, one of them in very low concentration.

The particle morphology agrees with the symptomatology, transmission tests, stability *in vitro* and serological works of the bean rugose virus group which would place the studied isolate in the same virus group (3, 4, 5, 8).

Histological examination of infected leaf tissues in the electron microscope detected the presumed BRMV-A particles *in situ*. The isometric particles seen within infected cells are regarded as virions due to their constant size and shape, and because their size is similar to the particles found in purified preparations. Virus particles often appeared within the vacuoles and were occasionally associated with vesicles in the cytoplasm, but their similarity in morphology with the ribosomes makes a clear cut identification difficult. The vesicles are probably involved in virus synthesis and/or assembly. Another feature of the BRMV-A infected cells was the occasional appearance of a bundle of loose fibers whose nature has not been determined yet but is similar to that reported in cells infected with cowpea mosaic virus (1,2) and strain A2 of the bean rugose mosaic virus (15).

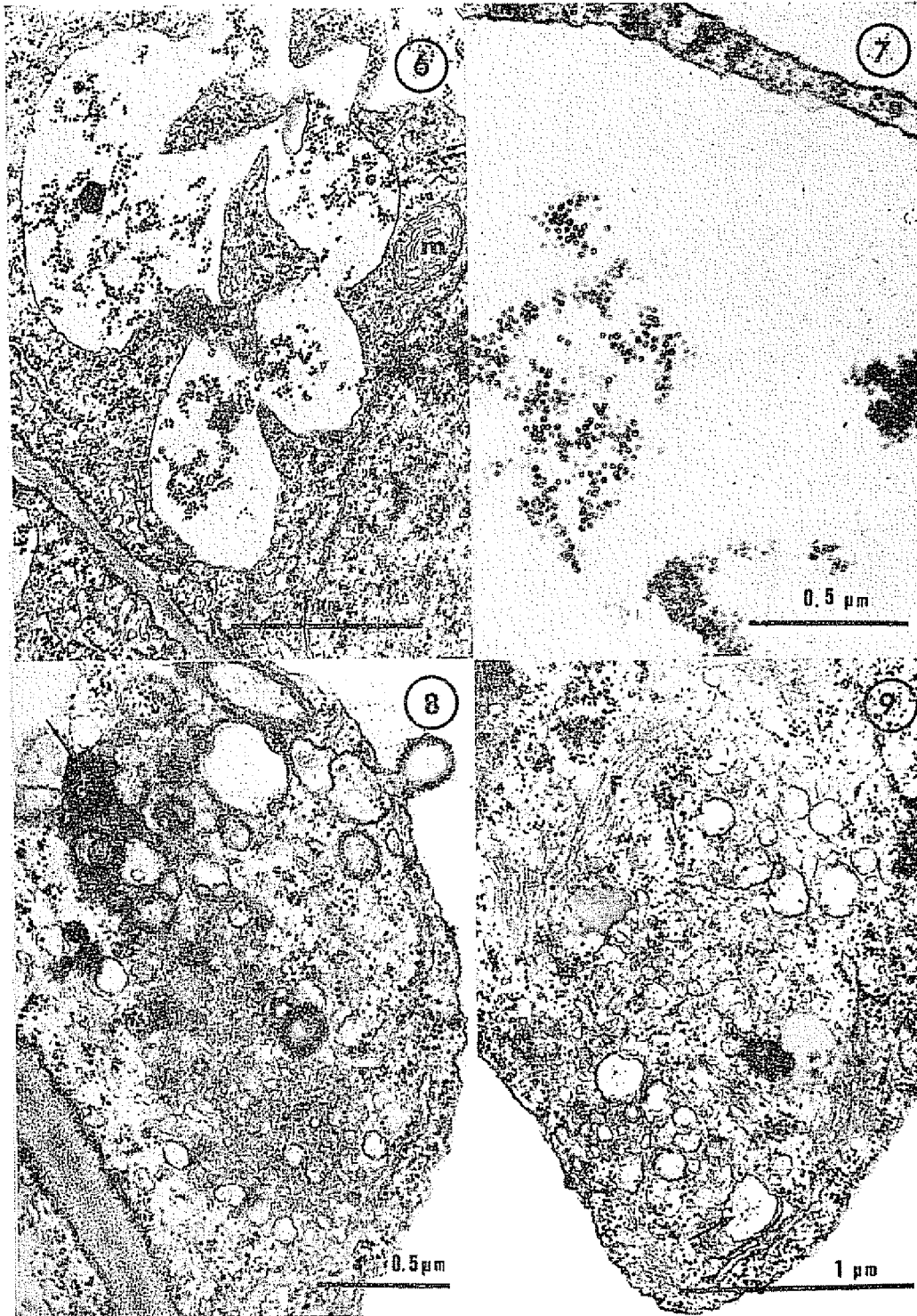


Fig 6 7—At higher magnifications the dense specks in the vacuole appear to be made up of isometric particles ( $v$ ), probably representing BRMV-A - virions in situ. Sometimes the particles appear interspersed with a dense amorphous material (Fig 7) N - nucleus m - mitochondrion

Fig 8—Detail of the cytoplasmic area in vesicles. Note some virus like particles within membrane-bounded cavities (arrow).

Fig 9—Another cytoplasmic area rich in vesicles, some of which contain a threadlike material (arrow). Loose bundles of a fibrous material (F) appear near the vesicles

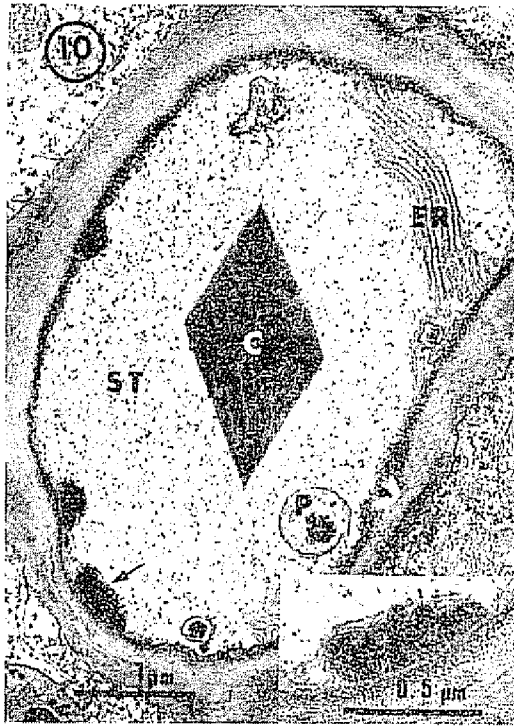


Fig. 10.—Viruslike particles in the sieve tube (ST) within membrane bounded cavities (arrow). Inset is a detail of such a cavity. ER—endoplasmic reticulum; P—chloroplast; C—crystalline inclusion.



Fig. 11.—Viruslike particles (v) in the lumen of a xylem vessel (X).

The high concentration of the presumed virus particles in the infected tissue is also confirmed by the relatively easy detection of these isometric particles in leaf dip preparations, which can thus be used for diagnostic purposes.

Although cytologically BRMV-A infection produces only a few of the cytopathic effects induced by the BPMV (12) to which BRMV-A is serologically related, this is not particularly significant since strains of the same virus sometimes produce different intracellular behavior (15, 19).

Physical properties, size and shape of the particle, vector, multiple component nature, and serological and relationship place BRMV-A in the comovirus group (9, 11). Furthermore, it closely resembles bean rugose mosaic virus of Costa Rica (8). Thermal inactivation point, longevity *in vitro*, and size of the virus particle distinguish it from bean curly dwarf mosaic virus (16), bean pod mottle virus (20), and its multiple component nature from bean mild mosaic virus (18), bean line-pattern mosaic virus (13), bean yellow stipple virus (7) and bean southern mosaic virus (4). Serologically it is related to the Salvadorean and Guatemalan BRMV,

and to a lesser extent to BPMV and CPMV - Arkansas. All these considerations lead us to the conclusion that ampollado disease of beans is not due to a new virus but to the severe Costa Rican strain of bean rugose mosaic virus.

#### Summary

Bean Rugose Mosaic Virus "Ampollado Strain", BRMV-A, had a thermal inactivation point of 70–75°C, a dilution end point of  $10^{-4}$ , and survived for 3 days at room temperature. It was apparently not seed transmitted. It was purified by clarification with 25 per cent chloroform and 10 per cent amyl alcohol, differential centrifugation, and rate density-gradient centrifugation. Two components were always isolated, which were infectious. Isometric particles *ca.* 25–30 nm were seen in leaf-dip and purified preparations as well as in the cytoplasm where they form small aggregates often surrounded by a membrane. The isometric particles were also observed in both the sieve tubes and xylem vessels. Serological tests showed a close relationship to BRMV, BPMV, and CPMV-Arkansas. All the properties studied indicated that it is not a new virus but a severe strain of the bean rugose mosaic virus - Costa Rica strain.



## Literature Cited

- 1 CAMARGO, I.J.B. Estudio comparativo ao microscópio de luz e electrónico de dois virus isométricos de leguminosas. Thesis: Campinas, SP, Univ Est Campinas, 66 p. (Mimeo) 1973.
- 2 ———, KITAJIMA, E. W., and COSTA, A. S. Microscopia electrónica do virus do mosaico-em-desenho do feijoeiro *in situ* Fitopatologia Brasileira 1:207-214 1976.
- 3 CARTIN, I. F. Caracterización de dos nuevas razas del virus del mosaico rugoso del Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Univ. Costa Rica, Fac Agron., Tesis de Grado, San José, 42 p. 1973.
- 4 FULTON, J. P., and SCOTT, H. A. Bean Rugose Mosaic and related viruses and their transmission by beetles. Fitopatologia Brasileira 2:9-16 1977.
- 5 ———, SCOTT, H. A., and GAMEZ, R. Beetle transmission of legume viruses. p. 123-131 *In* J. Bird and K. Maramorosch, eds. Tropical diseases of legumes. New York, Academic Press, 171 p. 1975.
- 6 GALVEZ, G., CARDENAS, M., y DIAZ, A. Purificación del virus ampollado del frijol. Proceedings American Phytopathological Society 1:22 1974.
- 7 GAMEZ, R. Los virus del frijol en Centroamérica. II. Algunas propiedades y transmisión por insectos crisomélidos del virus del moteado amarillo del frijol. Turrialba 26: 160-166 1976.
- 8 ———. Los virus del frijol en Centroamérica. IV. Algunas propiedades y transmisión por crisomélidos de virus del mosaico rugoso del frijol. Turrialba 22: 249-257. 1972.
- 9 GIBBS, A. Plant virus classification. Advances in Virus Research 14: 263-328. 1967.
- 10 GRANILLO, C. R., DIAZ, A., AMAYA, M., and JIMENEZ, G. E. A new virus disease of beans transmitted by chrysomelid beetles. p. 115-117 *In* J. Bird and K. Maramorosch, eds. Tropical diseases of legumes. New York Academic Press 1975. 174 p.
- 11 HARRISON, B.D., FINCH, J. F., GIBBS, A. J., HOLLINGS, M., SHEPHERD, R. J., VALENTA, V., and WETTER, C. Sixteen groups of plant viruses. Virology 45:356-363 1971.
- 12 KIM, K. S., and FULTON, J. P. Fine structure of plant cells infected with bean pod mottle virus. Virology 49:112-121. 1972.
- 13 KITAJIMA, E.W., CAMARGO, I.J.B., YANO, I., and COSTA, A.S. Purificação parcial do virus do mosaico-em-desenho do feijoeiro. Resumos 6º Congresso Soc Bras Fitopat., Pelotas, Rio Grande do Sul, 1973.
- 14 ———, GALVEZ, G. E., and TASCÓN, A. Virus do ampollado do Feijoeiro: Microscopia electrónica dos tecidos de feijoeiro infetados. Fitopatologia Brasileira 2:84 1977.
- 15 ———, TASCÓN, A., GAMEZ, R., and GALVEZ, G. E. Ultrastructural studies on bean leaf tissues infected with two strains of bean rugose mosaic virus. Turrialba 2:4:393-397 1975.
- 16 MEINERS, J.P., WATERWORTH, H.E., LAWSON, R.H., and SMITH, F.F. Curly Dwarf Mosaic disease of beans from El Salvador. Phytopathology 67:163-168 1977.
- 17 PAUL, H. L. Die bestimmung des Nucleinsäure-gehaltes pflanzlicher Viren mit Hilfe einer spektrophotometrischen Methode. Zeitschrift fuer Naturforschung, Teil C 14:127-132 1959.
- 18 WATERWORTH, H. E., MEINERS, J. P., LAWSON, R. H., and SMITH, F. F. Purification and properties of a virus El Salvador that causes mild mosaic in bean cultivars. Phytopathology 67:169-173 1977.
- 19 WEINTRAUB, M., and RAGEILI, H. W. J. Electron microscopy of the bean and cowpea strains of southern bean mosaic virus within leaf cells. Journal of Ultrastructural Research 32:167-189 1970.
- 20 ZAUMEYER, W. J., and THOMAS, H. R. Pod mottle, a virus disease of beans. Journal of Agricultural Research 77:81-96 1948.
- 21 ———, and THOMAS, H. R. A monographic study of bean diseases and methods for their control. Washington, D. C., United States Department of Agriculture. Technical Bulletin 868 255 p. 1957.

Estudio sobre la resistencia química del café a la mancha mantecosa causada por **Colletotrichum** spp. I - Actividad fungistática de metabolitos presentes en el tejido laminar y capa de cera de hojas<sup>\*1/</sup> \_\_\_\_\_ EDGAR VARGAS C. \*\*

ABSTRACT

*It was determined the ether extracts from laminar tissues and cuticular wax of coffee leaves of the immune cultivar 'Híbrido Tico and the susceptible 'Cubujuquí' are fungitoxic to Colletotrichum spp, the causal agent of Mancha Mantecosa. The phenolic substances extracted with acetone showed no fungitoxic activity. The extracts obtained from immune old leaves were more fungitoxic than those from young leaves of the susceptible cultivar. There was no difference between the ether extract of cuticular wax from both types of leaves; the presence of two metabolites with fungitoxic activity in this extract was determined by uni-dimensional paper chromatographic technique. It is possible there are other dynamics mechanisms of post-penetration, as a complement to the resistant factors determined in the laminar tissues and cuticular wax.*

Introducción

LA resistencia mostrada por las plantas a la infección por hongos se debe probablemente a factores morfológicos o bioquímicos (4). Se considera que el potencial bioquímico del hospedero es de mayor importancia y se expresa por medio de la inhibición del crecimiento y desarrollo del parásito, por la restricción en la producción o distribución dentro del hospedante de metabolitos que inducen la enfermedad o por la falta de respuesta a esos metabolitos. En algunas enfermedades las características morfológicas y bioquímicas están estrechamente integradas para conferir resistencia (4). La cutícula, además de funcionar como

barrera mecánica, puede tener sustancias que inhiben el desarrollo de los hongos (6). Lampard (5) determinó un factor fungitóxico presente en la capa de cera de cerezas verdes y hojas de cultivares de café, con actividad contra *Colletotrichum coffeanum*, causante de la enfermedad de las cerezas (CBD) y sugiere que este principio juega un papel importante en la resistencia a la enfermedad.

Los síntomas así como la etiología de la Mancha Mantecosa han sido descritos anteriormente (8). La forma localizada de las lesiones típicas, no necróticas, sugiere que estos síntomas son el producto de una reacción de defensa, ya que el hospedante está limitando el desarrollo del hongo, bajo ciertas condiciones, puede penetrar la barrera que le impone el hospedante y producir lesiones necróticas. Esto ocurre en el segundo par de hojas jóvenes, no así en las hojas más viejas las cuales no se infectan (8).

\* Recibido para publicación 9 de setiembre de 1977.

1/ El autor agradece al Dr. Eduardo Jiménez por las valiosas sugerencias sobre el manuscrito.

\*\* Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria, San José, Costa Rica

## Materiales y métodos

Para la extracción de las sustancias se usó hojas jóvenes (segundo par) de plantas adultas de los cultivares 'Híbrido Tico' que es inmune y 'Cubujuquí', susceptible. De cada muestra se tomó cuatro gramos de tejido laminar y se puso en un Soxhlet de 50 ml, haciendo primero una extracción con éter de petróleo durante tres horas para extraer las sustancias no fenólicas, no polares y luego con acetona durante el mismo tiempo con el fin de obtener las sustancias fenólicas. Una vez separado el extracto acuoso de la fracción etérea por medio de un embudo separador los demás extractos se concentraron a 10 ml por evaporación a condiciones ambientales, posteriormente se puso 10 gotas de cada extracto en portaobjetos a los cuales se le había puesto una película de papa-dextrosa-agar (PDA); las gotas se pusieron en tal forma que al evaporarse el éter o la acetona, el residuo quedara localizado. Posteriormente se puso una gota de una suspensión concentrada de esporas del hongo y se colocó los portaobjetos en cámaras húmedas pequeñas en condiciones de laboratorio; los testigos llevaban diez gotas de éter o acetona. Para la prueba del extracto acuoso se colocó diez gotas en la depresión de un portaobjetos y se hizo la suspensión de esporas directamente. En todas las pruebas se usó tres portaobjetos por repetición. Las lecturas se hicieron a las 24 horas, tomando una en el borde y otra en el centro de la mancha; los resultados se presentan en el Cuadro 1. También se hizo una prueba para fenoles con solución acuosa de cloruro de hierro III al 2%. Los extractos obtenidos con acetona dieron una coloración pardo-rojizo y los extractos acuosos, verde oscuro; esto indica que había alta concentración de fenoles. Por otra parte, los extractos etéreos dieron coloración verde tenue. La coloración de los diferentes fenoles está dada por el grado de polarización de la molécula (3). Como sólo los extractos etéreos resultaron con acción fungitóxica, se hizo una prueba de dilución poniendo de dos hasta ocho gotas por portaobjetos y se usó la misma metodología que en la prueba anterior.

De acuerdo con los resultados obtenidos había gran actividad fungitóxica en los extractos etéreos del cultivar inmune 'Híbrido Tico' y una menor actividad en los extractos del cultivar susceptible 'Cubujuquí'. Los extractos obtenidos con acetona no mostraron ninguna actividad fungitóxica a pesar de haber dado la prueba positiva para o-dihidroxifenoles, lo que pareciera indicar que estas sustancias, a pesar de que ocurren en altas concentraciones en las hojas jóvenes de café (2), no confieren resistencia contra el patógeno.

Sin embargo, el hecho de que los extractos etéreos dieran una coloración verde tenue, indica la presencia de algún fenol o fenoles con pocos grupos hidroxilos, eterificados, esterificados o glicosidados, solubles en éter, que podrían tener alguna función en la resistencia (3). En la prueba de la serie de dilución, los extractos etéreos de los dos cultivares inhibieron completamente la germinación a nivel de ocho gotas de extracto por cubreobjetos; sin embargo, la inhibición fue mayor con el extracto del cultivar 'Híbrido Tico' al nivel de seis gotas (Cuadro 2).

Para la prueba de extractos etéreos de hojas jóvenes (segundo par) y viejas (sexto par), según numeración acropétala, se hizo uso de platos Petri con A.P.D., poniendo previamente en cada plato cuatro gotas de una suspensión concentrada de esporas; esto se hizo debido a que así se puede notar mejor el efecto de la concentración de toxinas. En el centro de cada plato se colocó un cilindro de porcelana al cual se le puso 0,5 ml de extracto; los testigos llevaban igual cantidad de éter de petróleo. Se usó tres platos por repetición y se incubó a 26°C, la lectura se hizo a las 48 horas midiendo el diámetro de la zona de inhibición. Se notó una mayor acción fungitóxica aunque no estadísticamente significativa de los extractos de hojas viejas que de las jóvenes (Cuadro 3).

Cuando se inyecta subepidérmicamente una suspensión de esporas en hojas jóvenes y viejas, se producen lesiones necróticas sólo en las hojas jóvenes (8); esto sugiere la presencia de algún factor de resistencia en la epidermis de hojas jóvenes y en los demás tejidos de hojas viejas.

Cuadro 1.—Efecto de extractos etéreos, acuosos y de acetona de hojas de café de los cultivares 'Híbrido Tico' y 'Cubujuquí' en la germinación de esporas de *Colletotrichum spp*

Repetición	Porcentaje de germinación de esporas						Testigo
	Híbrido Tico inmune			Cubujuquí susceptible			
	extracto etéreo	extracto acuoso	extracto acetona	extracto etéreo	extracto acuoso	extracto acetona	
1	0	100	100	22,5	100	100	100
2	0	97,1	91,5	18,1	97,1	97,1	89,5
3	0	98,3	98,3	17,6	98,3	98,3	94,6
4	0	89,3	99,2	8,3	89,3	89,3	96,7

Cuadro 2.—Efecto de diferentes concentraciones de extractos etéreos de hojas de los cultivares 'Híbrido Tico' y 'Cubujuquí' en la germinación de esporas de *Colletotrichum spp*

Concentración (número de gotas por cubre objeto)	Porcentaje de germinación de esporas	
	Híbrido Tico inmune	Cubujuquí susceptible
2	90,11	92,86
4	39,42	35,06
6	4,93	14,21
8	0	0
0	91,11	96,35

Con base en esto se hizo extracciones con éter sulfúrico de la capa de cera de hojas viejas de los cultivares 'Híbrido Tico' y 'Cubujuquí'. Para esto se escogió diez hojas de igual tamaño y edad que no presentaran daños aparentes. Cada hoja se lavó dos veces por el haz con sucesivas porciones de 5 ml de éter, según el método de Fernández *et al* (1), en tal forma que los tejidos internos no resultaran afectados. El extracto se dejó evaporar al ambiente hasta la sequedad y luego se redisolvió en 10 ml de éter de petróleo. Esto se hizo debido a que el éter sulfúrico extrae mayor cantidad de cera, pero inhibe la germinación de las esporas. La prueba se hizo en platos Petri, usando la misma metodología que en el caso anterior. De acuerdo con los resultados obtenidos (Cuadro 4), se notó una mayor inhibición, con los extractos de hojas de 'Cubujuquí' (susceptible) que en 'Híbrido Tico' (inmune) pero las diferencias no fueron significativas. Tampoco se obtuvo diferencias con extractos de la capa de cera de hojas jóvenes y viejas del cultivar 'Cubujuquí' (Cuadro 5), aunque se obtuvo una mayor cantidad de cera de las hojas viejas, esto por simple observación visual. El hecho de que las hojas viejas de plantas susceptibles sean inmunes podría interpretarse como una transformación de la epidermis, que resulta en una mayor concentración de metabolitos que impiden el desarrollo del hongo y a un mayor grosor de la capa de cera que funciona como barrera mecánica. Aún así, se considera en general (6), que el grosor de la capa de cera no siempre está correlacionado con la resistencia; pero puede ser importante en algunos casos, como la mayor resistencia observada al aumentar la edad de la hoja de lima (*Citrus aurantiifolia*) a *Gloeosporium limeticola* (7).

Cuadro 3.—Efecto de extractos etéreos de hojas jóvenes y viejas de café del cultivar 'Cubujuquí' en la germinación de esporas de *Colletotrichum spp*.

Repetición	Diámetro zona de inhibición en cm.*		
	Hojas jóvenes susceptibles	Hojas viejas inmunes	Testigo
1	3,5	4,8	0
2	4,2	4,0	0
3	2,8	5,1	0
4	4,3	5,3	0
Promedio	3,7	4,8	

\* Lectura a las 48 horas

Para la prueba cromatográfica-biológica se distribuyó 0,1 ml de extracto etéreo de la capa de cera de hojas jóvenes de Cubujuquí, en tiras de 30 X 5 cm de papel de cromatografía Whatman N° 1 que había sido previamente tratado con alcohol y secado al ambiente; luego se puso las tiras en cilindros de vidrio de 30 cm de alto por 6 cm de diámetro; se usó como solvente la fase orgánica de un sistema de alcohol butílico terciario, ácido fórmico y agua (4:1:3) en método ascendente (5): Se agregó 30 ml de solución en el fondo del cilindro y se dejó saturar a temperatura

Cuadro 4.—Inhibición de la germinación de esporas de *Colletotrichum* por extractos etéreos de la capa de cera de hojas de café de los cultivares 'Híbrido Tico' y 'Cubujuquí'.

Repetición	Diámetro zona de inhibición en cm.		
	Híbrido Tico inmune	Cubujuquí susceptible	Testigo
1	2,6	2,5	0
2	2,5	3,0	0
3	3,0	3,0	0
4	2,2	3,2	0
Promedio	2,58	2,94	

ambiente (18-23°C). Después de 24 horas se sacó las tiras y se les puso a secar. Finalmente cada tira se cortó en pedacitos de un centímetro (23 en total), que fueron numeradas en orden ascendente y colocados individualmente en platos Petri, donde fueron sembrados con una suspensión de esporas; se usó PDA como medio de cultivo. La incubación se hizo a 26°C y la lectura a las 48 horas. Hubo inhibición del crecimiento del hongo en los trozos de papel (13 y 14); sin embargo, estos extractos no dieron ninguna reacción de color con cloruro de hierro III para o-dihidroxifenoles

Cuadro 5.—Efecto del extracto etéreo de la capa de cera de hojas jóvenes y viejas de plantas adultas del cultivar 'Cubujuquí' en la germinación de esporas de *Colletotrichum spp.*

Repetición	Diámetro de la zona de inhibición en cm		
	Hojas jóvenes susceptibles	Hojas viejas inmunes	Testigo
1	2,6	2,5	0
2	2,5	3,0	0
3	3,0	3,0	0
4	2,2	3,2	0
Promedio	2,58	2,9-i	

Es posible que como complemento a los factores de resistencia determinados en el tejido foliar y capa de cera, también estén involucrados otros mecanismos dinámicos de resistencia de post-penetración.

#### Literatura citada

- 1 FERNANDEZ, A.M.S., BAKER, E.A. y MARTIN, J.I. Studies of plant cuticle. VI The isolation and fractionation of cuticular waxes. *Annals of Applied Biology* 53: 43-58. 1964.
- 2 GOPAL, N.H. y RAMAIAH, P.K. Polyphenolic compounds in the leaves of coffee plants. I. Acid phenols. *Turrialba* 19: 126-128. 1969.
- 3 HARBORNE, J. B. *Biochemistry of phenolics compounds*. London, Academic Press, 1963.
- 4 KUC, J. Resistance of plants to infectious agents. *Annual Review of Microbiology* 20: 337-370. 1966.
- 5 LAMPARD, J.F. y CARTER, G.A. Chemical investigations on resistance to coffee berry disease in *Coffea arabica*. An antifungal compound in coffee cuticular wax. *Annals of Applied Biology* 73: 31-37. 1973.
- 6 MARTIN, J.I. Role of cuticle in the defense against disease. *Annual Review of Phytopathology* 2: 81-100. 1964.
- 7 ROBERTS, M.F. y MARTIN, J.I. Withertip disease of lime (*Citrus aurantifolia*) in Zanzibar. III. The leaf cuticle in relation to infection by *Gloeosporium limeticola* Chausen. *Annals of Applied Biology* 51: 411-413. 1963.
- 8 VARGAS, E. y GONZALEZ, L.C. La mancha mantecosa del café causada por *Colletotrichum spp.* *Turrialba* 22: 129-135. 1972.

# Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. VII. Changes in iron and copper enzymes and ascorbic acid during flower bud development and anthesis\*

N. VASUDEVA, N. H. GOPAL\*\*

## COMPENDIO

*Se llevaron a cabo estudios de los cambios progresivos en las actividades de las enzimas hierro-porfirina peroxidasa y catalasa, enzimas cobre-proteínas polifenol oxidasa y ácido ascórbico oxidasa (de la vitamina C) asociados con diferentes fases florales de plantas de Coffea arabica L. cv 'S 795' de 15 años de edad cultivadas en condiciones de campo en el Central Coffee Research Institute. Se describieron en detalle los cambios cuantitativos en estas actividades enzimáticas y el contenido de vitamina durante el desarrollo inicial, madurez, crecimiento muy poco visible de las yemas florales maduras (todas antes de las lluvias de floración) y durante la reiniciación del crecimiento de las yemas florales maduras (engrosamiento) y hasta la antesis (flores plenamente abiertas en el primer día de la floración). El posible papel de estos compuestos bioquímicos durante las diferentes fases florales se discute a luz del conocimiento existente sobre la floración en las plantas*

### Introduction

ONE OF the most fascinating aspects of coffee technology is the flowering process of the plant. The topic bears a valid relationship to physiological factors. However, many phenomena of floral phase in coffee plant are yet to be clearly understood. Therefore, detailed studies on floral physiology were initiated during 1970 at Central Coffee Research Institute, and the results obtained so far on some aspects of flowering were reported (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12).

### Object of the present study

The presence of iron-porphyrin enzymes peroxidase and catalase, copper-protein enzymes polyphenol oxidase and ascorbic acid oxidase as well as ascorbic acid (vi-

tamin C) in flower buds and flowers of many plants has been reported by several workers as reviewed by Chinoy *et al.* (2) and Nitich (19). Ascorbic acid has been recognised as a growth hormone by Italian scientists Tonzig and Marre (23). However, the role(s) of these enzymes and ascorbic acid in floral physiology is not yet clearly known (3, 14, 16). Therefore, a study has been carried out to find out the progressive quantitative changes in the activities of peroxidase, catalase, polyphenol oxidase, ascorbic acid oxidase and ascorbic acid content associated with flower bud development, enlargement and anthesis, and their possible role(s), if any, in these reproductive phases, using arabica coffee plants.

### Materials and Methods

The investigation was initiated during December 1972, when the flower buds were clearly visible on *Coffea arabica* L. cv. 'S 795' plants. The plants were 15 years old and grown under natural permanent shade with dadaps (*Erythrina lithosperma*) as temporary shade at "M block" of Central Coffee Research Institute. The plants were free from nutritional disorders, pests and

\* Received for publication August 14th, 1976

\*\* Assistant Plant Physiologist and Plant Physiologist, respectively, Division of Plant Physiology, Central Coffee Research Institute, Coffee Research Station 577 117, Chikmagalur District, Karnataka, India

diseases. The situation, aspect and typical example of macroclimatological data of the farm area were previously reported (6, 24).

Three uniform plants were selected and eight secondary branches were labelled on each plant at random. At each time of sampling, the flower buds or flowers (at both the axils) present at the fourth node from the tip, were collected from one branch on each of the three plants. The experimental samples were assayed for their peroxidase, catalase, polyphenol oxidase and ascorbic acid oxidase activities (13, 20) and ascorbic acid content (22). Since there was not much difference between the values obtained in samples collected at 15 day intervals, the sampling of material was done only once in a month up to the receipt of blossom showers. After this and during the enlargement of flower buds the estimations were made once in two days, and the last assay was done in fully opened flowers on the first day of blossom.

### Results

#### Iron-porphyrin enzymes

The two iron-porphyrin enzymes peroxidase and catalase behaved similarly during different growth phases of flower buds and until anthesis (Table 1). The activity of catalase was always higher than peroxidase at all the phases of floral development including flowers. The activities of both enzymes were higher during initial development (average of December and

January) and at maturity (February) than during very little visible growth phase of mature flower buds in March (Table 2). Two days after blossom showers (April 5, 1973), the activity of peroxidase and catalase increased by 228 and 50 per cent, respectively. After a decrease in the activities of both the enzymes (on April 7, 1973), they again increased (on April 9, 1973) and finally decreased in the fully opened flowers on the first day of blossom (April 11, 1973).

#### Copper-protein enzymes

The progressive changes in the activities of the two copper protein enzymes, polyphenol oxidase and ascorbic acid oxidase, were different from that of the two iron porphyrin enzymes during the various phases of flower bud development, enlargement and at anthesis (Table 1). There was not much difference between the activities of the two enzymes until the receipt of blossom showers. After blossom showers, the activity of ascorbic acid oxidase was higher than polyphenol oxidase in flower buds during their enlargement and until anthesis. The enzymes activities were higher during the initial development of flower buds, followed by a decrease in their activities in mature flower buds. During the phase of very little visible growth of mature flower buds the enzyme activities were slightly increased (Table 2).

Two days after the receipt of blossom showers, the activities of both the enzymes increased by 52 and 204 per cent respectively, as against the previous activities, decreased on the fifth day after blossom showers (on

Table 1—Peroxidase, catalase, polyphenol oxidase and ascorbic acid oxidase activities of flower buds or flowers during bud development and anthesis in arabica coffee S. 795 plants (Mean of three replications)

No	Period of observation	Different phases	Iron-porphyrin enzymes		Copper-protein enzymes	
			Peroxidase <sup>a</sup>	Catalase <sup>b</sup>	Polyphenol oxidase <sup>c</sup>	Ascorbic acid oxidase <sup>d</sup>
1.	December 1972	A	2.1 ± 0.8	5.3 ± 0	2.2 ± 0.4	3.2 ± 0.3
2.	January 1973		6.2 ± 1.3	21.2 ± 3.1	4.7 ± 0.8	3.5 ± 0.5
3.	February 1973	B	6.8 ± 2.1	17.7 ± 3.5	2.2 ± 0.4	2.1 ± 0.3
4.	March 1973	C	1.8 ± 0	10.6 ± 0	2.9 ± 0.3	2.6 ± 0.5
5.	5 - 4 - 1973	D	5.9 ± 1.8	15.9 ± 0	4.4 ± 1.0	7.9 ± 1.0
6.	7 - 4 - 1973		4.4 ± 0.5	10.6 ± 0	2.6 ± 0.5	4.4 ± 0.5
7.	9 - 4 - 1973		11.7 ± 0.3	12.4 ± 1.8	1.2 ± 0.3	10.6 ± 0
8.	11 - 4 - 1973	E	2.6 ± 1.0	10.6 ± 0	2.1 ± 0.8	4.4 ± 1.0

A : Initial developmental phase; B : Maturity phase; C : Very little visible growth of mature flower buds (before blossom showers); D : During active enlargement of mature flower buds after the receipt of blossom showers (blossom showers received on April 3, 1973); E : In fully opened flowers on the day of first blossom; a, c and d : Expressed in terms of mg ascorbic acid oxidized per g fresh wt in 30 min; b : Expressed in terms of mg hydrogen peroxide decomposed per g fresh wt in 5 min

Table 2.—Peroxidase, catalase, polyphenol oxidase, ascorbic acid oxidase and ascorbic acid in flower buds during different phases of their development (until the receipt of blossom showers) in arabica coffee S. 795 plants \*

Growth phase of flower buds	Peroxidase	Catalase	Polyphenol oxidase	Ascorbic acid oxidase	Ascorbic acid
Initial development** (December and January)	4.1	13.3	3.5	3.1	50.3
Maturity (February)	6.8	17.7	2.2	2.1	61.9
Very little visible growth of mature flower buds (March)	1.8	10.6	2.9	2.6	40.7

\* For details of enzyme activities and ascorbic acid expressions refer Table 1 and Figure 1.

\*\* Average values of December and January

April 7, 1973), again increased (on April 9, 1973) and finally decreased in fully opened flowers on the first day of blossom (Table 1).

#### Ascorbic acid

Ascorbic acid content was higher during initial development (average of December and January) and at maturity phase of flower buds, but decreased considerably during the phase of very little visible growth of mature flower buds (Table 2). With the advent of blossom showers, the vitamin content increased by 58 per cent (on April 5, 1973) on the previous value, later decreased considerably (on April 7, 1973) but again increased (on April 9, 1973), and finally it was 54.5 mg/g fresh wt in fully opened flowers on the first day of blossom (Fig. 1).

#### Discussion

In general, the activities of the two iron-porphyrin or haematin enzymes peroxidase and catalase were relatively higher during the initial development and at maturity phases of flower buds than during the phase of their very little visible growth. Whereas the activities of the two copper-protein enzymes polyphenol oxidase and ascorbic acid oxidase were comparatively low in mature flower buds as well as during the phase of very little visible growth of mature flower buds than during their initial development. These results indicate that all the four enzymes play an important role in metabolic activities associated with the initial development of flower buds. It is interesting to note that mature flower buds contained relatively high activities of peroxidase and catalase, which may protect the buds from accumulation of hydrogen peroxide, which is known to be injurious to cells (14, 16).

Two days after blossom showers and during the resumption in growth (enlargement) of flowers buds, due to increased water in buds (6, 9), all the four

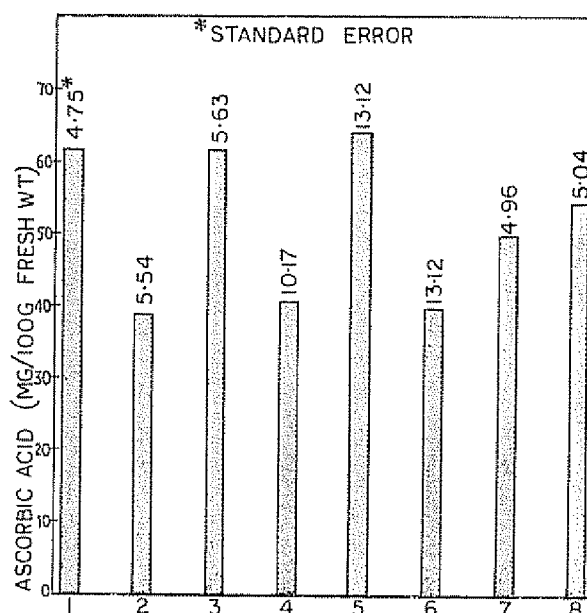


Fig. 1.—Changes in ascorbic acid content of flower buds during their initial development, maturity (before blossom showers), enlargement and anthesis (after blossom showers) in arabica coffee 'S.795' plants. For details of different floral phases (1 to 8) refer Table 1.

enzymes showed a sudden increase in their activities as against the previous activities (during very little visible growth of mature flower buds). Later in fully opened flowers on the first day of blossom, the activities of all the four enzymes more or less reduced to the level found progressive quantitative changes in the enzyme activities show that all the four enzymes involved in some way in metabolic processes associated with the active enlargement of mature flower buds and until



their anthesis, after the receipt of blossom showers. The role of peroxidase and catalase in energy transfer mechanisms during reproductive phases in plants was discussed by Chinoy (1) and Chinoy *et al.* (2). Even though the two copper-protein enzymes polyphenol oxidase and ascorbic acid oxidase are well known to play fundamental role in terminal respiratory oxidase system (15), in the absence of data on CO<sub>2</sub> released as also on the various substrates involved in respiration it is very difficult to offer a suitable explanation for their participation, if any, in respiratory path-ways during different phases of floral physiology studied in the present work.

Ascorbic acid content was fairly high during the initial development and maturity phases of floral process, which may be required for the formation, development and maturity of flowers buds. However, the vitamin content decreased during the phase of very little visible growth of mature flower buds, and this might be due to the lower water content in the plants as a whole as well as in flower buds during this phase in March (6, 9). But, the vitamin content increased substantially in two days after the receipt of blossom showers, which was associated with increase in water content of flower buds (6, 9). Chinoy *et al.* (2) also noted similar changes in ascorbic acid content in plant parts during water stress and rewatering. However, four days after blossom showers the vitamin content decreased, but again resynthesized to some extent during the later phases of flower bud enlargement and in the fully opened flowers on the first day of blossom. In spite of this, the quantity of the vitamin was still lower than the amount found in the flower buds during their initial development and maturity.

The function of ascorbic acid in plants is documented in detail (18). It was shown (1, 2) that ascorbic acid play a vital role as growth hormone in the physiology of flowering in plants by participating in energy releasing metabolic processes which aid in differentiation of floral primordia as well as maturity of flower buds. More or less similar observations were also reported on the role of ascorbic acid in the physiology of coffee flowering, particularly during the resumption in growth of mature flower buds (enlargement) and until their anthesis (21). In the present study, the progressive quantitative changes in ascorbic acid during the different floral phases indicate that the vitamin appears to play an important role in the flowering process of coffee including the formation of flower buds, their maturity and in later floral phases until anthesis.

#### Summary

Studies were carried out on the progressive changes in the activities of iron-porphyrin enzymes peroxidase and catalase, copper-protein enzymes polyphenol oxidase and ascorbic acid oxidase and ascorbic acid (vitamin C) associated with different floral phases of 15 years old *Coffea arabica* L. cv. 'S.795' plants grown under field conditions at the Central Coffee Research Institute. The quantitative changes in these enzyme activities and the vitamin content during initial development, maturity,

very little visible growth of mature flower buds (all before blossom showers) and during resumption in growth of mature flower buds (enlargement) and until anthesis (fully opened flowers on the first day of blossom) were described in detail. The possible role(s) of these biochemical compounds during the different floral phases including blossom are discussed in the light of the existing knowledge on flowering in plants.

#### Acknowledgements

The authors are grateful to Dr. G. I. D'Souza, Director of Research, Central Coffee Research Institute, for encouragement in these studies.

#### Literature cited

1. CHINYOY, J. J. A new concept of flowering on the basis of molecular and submolecular events occurring in the shoot apex and the leaf of wheat. *Indian Journal of Plant Physiology* 12:67-80. 1969.
2. ———— *et al.* Some aspects of the physiological role of ascorbic acid in plants. *Indian Agriculture* 15: 33-48. 1971.
3. GAUCH, H. G. *Inorganic Plant Nutrition*. Stroudsburg, Pennsylvania. Dowden, Hutchinson and Ross. 1972, 488 p.
4. GOPAL, N. H. Some aspects of hormonal balance in coffee. *Indian Coffee* 38: 168-175. 1974.
5. ———— Some physiological factors to be considered for stabilization of arabica coffee production in South India. *Indian Coffee* 38: 217-221. 1974.
6. ———— and VASUDEVA, N. Physiological studies on flowering in arabica coffee under South Indian conditions. I. Growth of flower buds and flowering. *Turrialba* 23: 146-153. 1973.
7. ———— and VENKATARAMANAN, D. Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. V. Growth-substance content during flower bud enlargement and anthesis. *Turrialba* 26: 74-79. 1976.
8. ———— and VISHVESHVARA, S. Flowering of coffee under South Indian conditions. *Indian Coffee* 35:142-143, 154. 1971.
9. ————, VENKATARAMANAN, D. and RAJU, K. I. Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. II. Changes in water content, growth rate, respiration and carbohydrate metabolism of flower buds during bud enlargement and anthesis. *Turrialba* 25: 29-36. 1975.
10. ————, RAJU, K. I., VENKATARAMANAN, D. and JANARDHAN, K. V. Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. III. Flowering in relation to foliage and wood starch. *Turrialba* 25:239-242. 1975.
11. ————, VENKATARAMANAN, D. and RAJATHNA, N. G. N. Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. IV. Some physical properties and chromatographic assay of a gum-like substance exuded by flower buds. *Turrialba* 25:410-413. 1975.
12. ———— and RAJU, K. I. Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. VIII. Number of flower buds in relations to wood starch of cropping branches. *Turrialba* 28; 1978 (Under publication).

- 13 GOPALCHARI, N C Changes in the activities of certain oxidizing enzymes during germination and seedling development of *Phaseolus mungo* and *Sorghum vulgare*. Indian Journal of Experimental Biology 1:98-100 1963.
- 14 HARIREE, E. F. Haematin compounds. In "Modern Methods of Plant Analysis" (K. Peach and M. V. Tracey, eds.), Vol IV Berlin, Springer-Verlag, 1955 pp 197-215.
- 15 HEWITT, E. J. The role of the mineral elements in plant nutrition. Annual Review of Plant Physiology 2:25-52 1951.
- 16 ——— The role of mineral elements in the activity of plant enzyme systems. In Encyclopedia of Plant physiology (W. Ruhland, ed.) Berlin, Springer. IV vol., 1958 pp 427-481.
- 17 JANARDHAN, K V, RAJU, K I. and GOPAL, N.H. Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. VI. Changes in growth rate, indoleacetic acid and carbohydrate metabolism during flower bud development and anthesis. Turrialba 27: 29-35 1977.
- 18 MAPSON, L W. Metabolism of ascorbic acid in plants: Part I. Function. Annual Review of Plant Physiology 9: 119-150 1958.
- 19 NIISCH, J. P. Physiology of flower and fruit development. In "Encyclopedia of Plant Physiology" (W. Ruhland, ed) Vol XV/1 Berlin. Springer 1965 pp 1537-1647.
- 20 POVOLOTSKAYA, K. I. and SEDENKO, D. M. A method for collective determination of ascorbic acid oxidase, polyphenol oxidase and peroxidase activities. Biokhimiya, (Leningrad) 21: 133-136. 1956.
- 21 RAMAIAH, P. K. et al. Studies on the physiology of flowering and fruit growth in coffee (*Coffea arabica* L.); ascorbic acid content in relation to the flower opening. Paper presented at the First session of the FAO Technical Working Party for Coffee Production and Protection, Rio de Janeiro, Brazil 1965 4 p.
- 22 ROE, J. H. Chemical determination of ascorbic, dehydroascorbic and diketogulonic acids. In "Methods of Biochemical Analysis" (D. Glick, ed.) New York. Interscience Vol I 1954. pp 115-139.
- 23 TONZIG, S. and MARRE, E. Ascorbic acid as growth hormone. In Plant Growth Regulation (R. M. Klein, Chairman, Editorial Committee) Fourth International Conference on Plant Growth Regulation Ames Iowa State University Press, 1961 pp 725-734.
- 24 VASUDEVA, N. and GOPAL, N. H. Studies on leaf growth. V. The life-span of coffee leaves in South India. Indian Coffee 39: 171-174 1975.

## Notas y Comentarios

### *Fungicidas para enfermedades originadas en el suelo*

Los fungicidas sistémicos son transportados dentro de las plantas por el xilema, de manera que muy rara vez van del follaje a la raíz. Por eso, ha despertado interés el anuncio de que se ha descubierto una nueva familia de fungicidas eficaces contra enfermedades originadas en el suelo. El anuncio se hizo en la British Crop Protection de 1977, celebrada en Brighton, Inglaterra, en la que se dieron a conocer otros dos nuevos desarrollos fitopatológicos, de los que damos cuenta en este número de *Turrialba* (Véase p 376).

Las enfermedades originadas en el suelo tales como el oidio de las gramíneas (*Erysiphe graminis*), que hizo daños a la cosecha británica de cebada en 1977, por un valor de 45 millones de dólares, son inmunes a fungicidas sistémicos, que son eficaces en otras condiciones, debido a que estas sustancias se mueven sólo hacia arriba cuando están dentro de las plantas. Los ensayos de campo, conducidos por D. J. Williams de la firma May and Baker Ltd, con una amplia variedad de cultivos tropicales y templados, han indicado que un nuevo producto comercial, puesto a la venta con el nombre de Aliette, que puede ser transportado hacia abajo, a las raíces. Estos fungicidas ofrecen un potencial enorme en la lucha para controlar al grupo de patógenos fomicetos como *Phytophthora*, *Peroospora* que producen podredumbres radicales y *oidios* en cultivos como cítricos, lechuga, pimientos, papas y lúpulo.

### *Aplicación comercial de la ingeniería genética*

Genentech, una pequeña compañía californiana, es casi cierto que será la primera firma industrial que explotará comercialmente la ingeniería genética. A mediados de 1978 espera estar fabricando la pequeña hormona somatostatina para su venta a organismos de investigación y compañías farmacéuticas. Una meta aún más ambiciosa es la fabricación rutinaria de insulina antes de que termine 1978. Sobre lo que ahora se denomina ingeniería genética hemos informado en varias ocasiones a nuestros lectores, desde los primeros ensayos de fusión de cromosomas de distintas especies (Cf *Turrialba* 20: 139) hasta la alarma que produjo las posibles consecuencias de manipular el material hereditario de las células (Vol 24: 347).

La compañía Genentech tiene contactos estrechos con Herbert Boyer, investigador de San Francisco, que encabeza el equipo que recientemente insertó un gen de somatostatina, sintetizado artificialmente, en una bacteria. El gen artificial fue producido exitosamente por la maquinaria molecular de la bacteria, la que produjo somatostatina relativamente pura. Esto fue la primera vez que una proteína específica había sido manufacturada por una tecnología de ingeniería genética (Cf *New Scientist*, 10 de noviembre 1977, p. 333).

La somatostatina se hace actualmente ensartando sus 14 aminoácidos químicamente, un proceso que rinde un producto que cuesta US\$ 50 000 por gramo. La nueva tecnología, según un vocero de Genentech, (New Scientist Vol. 76, p. 619) podría cortar sustancialmente este costo. La hormona, que tiene muchas acciones fisiológicas, actúa principalmente como regulador del crecimiento.

La manufactura de insulina mediante técnicas de ingeniería genética es mucho más complicada porque es 10 veces más grande que la primera hormona y está compuesta de dos cadenas separadas de aminoácidos.

Ahora que la tecnología de la ingeniería genética ha entrado en el campo comercial, el difícil problema de la protección de las patentes se verá incrementado. Tanto Herbert Boyer como Genentech tienen patentes de algunos aspectos de la tecnología y es seguro de que, antes de que pase mucho tiempo, estarán llenando nuevas solicitudes de patentes, que cubran pasos cruciales en este enfoque revolucionario en la manufactura de proteínas.

### *Nueva era para los antibióticos*

La industria farmacéutica internacional está en camino hacia una nueva era de innovación. Se han desarrollado dos dramáticos nuevos productos, ambos por compañías norteamericanas. Uno es la primera droga eficaz contra los virus, y el otro es un antibiótico, contra el cual las bacterias no adquieren resistencia (*The Economist*, October 1st, 1977, página 92).

Actualmente, los que sufren enfermedades viróticas son abandonados a los mecanismos de sus propios cuerpos, que consisten en la elaboración de anticuerpos y de interferón, ambos extremadamente eficaces, pero lentos (a veces dema-

siado tarde para curar al paciente). Los normalmente cautelosos Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos han aclamado a Vira-A, la nueva droga anti-virus, como la rotura de frente más grande desde la penicilina.

Los primeros ensayos se hicieron con pacientes con encefalitis. Antes de que la droga esté disponible para todos, se necesitarán más pruebas, pero a la firma Warner Lambert, que la fabrica, se le han dado seguridades de que la Food and Drug Administration, cuyas demoras son objeto de críticas de parte de la industria, hará todo lo posible para acelerar su aprobación.

El segundo producto fue descubierto primero por Merck, Sharp and Dohme al final de los novecientos sesenta, una indicación de las demoras de que se quejan las compañías. Esta nueva droga está sólo ahora en las últimas etapas de conseguir aprobación. Es un antibiótico llamado Cefoxitina, que no sólo mata las bacterias que se han vuelto resistentes a la penicilina, sino también a algunos tipos de bacterias contra las que las penicilinas nunca fueron muy eficaces. Es también resistente a las enzimas que destruyen a los antibióticos.

La Cefoxitina es hecha por bacterias, mientras que la mayoría de los antibióticos son producidos por hongos. En realidad, hay ya otros antibióticos basados en bacterias, como las estreptomycinas y las aureomicinas. Desafortunadamente, las bacterias pueden cambiar material genético con sus vecinos por simple contacto (como si tropezarse con Mahomed Ali lo hiciese fuerte a uno). Pero hasta ahora ninguna enzima bacteriana conocida puede destruir la Cefoxitina.

Por su parte, Vira-A está basada en un hongo, encontrado originalmente en un suelo de Italia, pero después se ha visto que vive en esponjas del Caribe; un signo más de que los organismos marinos presentan un gran potencial de material no explotado para el desarrollo de antibióticos (*The Economist*, August 13th, p. 83).

#### Cuarta Conferencia Mundial sobre Producción Animal

La Cuarta Conferencia Mundial sobre Producción Animal se realizará en Buenos Aires, Argentina, del 20 al 26 de agosto de 1978. El evento está auspiciado y organizado por la Asociación Argentina de Producción Animal (AAPA) y la World Association for Animal Production.

Los principales objetivos de la Conferencia serán analizar los factores que determinan la creación y aplicación del conocimiento científico y discutir dentro de este contexto el impacto y relevancia de los avances recientes en la investigación para aumentar la eficacia de los sistemas de producción animal. Los temas que se tratarán para acercarse a estos objetivos abarcan sistemas bioeconómicos, la construcción, desarrollo, identificación y descripción de sistemas de producción animal; la disponibilidad de alimentos; el papel de los animales disponibles, el control de enfermedades; las variables socioeconómicas, la elaboración de modelos.

Para mayores detalles, se puede escribir al Secretario General, Congresos Internacionales S.A., Reconquista 533, 6º piso, Buenos Aires 1005.

#### Publicaciones

*Notes du GEREI*. El Grupo de Estudio de las Relaciones Económicas Internacionales (GEREI) del Institut National de la Recherche Agronomique, de Francia, está publicando desde mediados de 1977, *Notes du GEREI* destinado a publicar los trabajos, comentarios, críticas, de los miembros del grupo. Sus temas de estudio abarcan los sistemas agroalimenticios de los países de la América Latina, la evolución de los proyectos económicos, y las relaciones económicas internas e internacionales de los países de América Latina. El segundo número contiene artículos sobre el plan Carter sobre la inmigración mexicana, la conferencia de trabajadores del azúcar en Trinidad, el congreso de la Federación Rural del Uruguay y un trabajo largo sobre el trigo en Brasil. La dirección es 6, Passage Tenaille, 75014 París, Francia.

#### Mosca predatora de ranas en Nicaragua

Un caso extraño de relación simbiótica entre larvas de rana y de moscas se ha descubierto en Nicaragua por Jaime Villa de la Universidad de Cornell, New York. Encontró que una especie no descrita de *Drosophila* (afín a la mosca de la fruta tan apreciada por los genetistas) pone sus huevos cerca de los huevos de una rana arbórea centralenida, *Centrolenella fleishmanni*. Los huevos de las ranas son víctimas de muchas especies de vertebrados e invertebrados, particularmente aquellas especies que ponen sus huevos en el agua. Sin embargo, muy pocos anfibios son objeto de ataques por dípteros (la excepción más notable son las moscas verdes que frecuentan las cavidades nasales de los sapos) (*Journal of Herpetology* Vol. 2, N° 3).

La rana arbórea de Nicaragua pone su masa de huevos en las hojas, y las observaciones de Villa suministran el primer ejemplo de un animal completamente especializado en explotar este recurso. Villa también llevó a cabo experimentos con las larvas del complejo "rana-mosca". Encontró que las larvas de la mosca se alimentaban de los huevos y que si los zigotes se quitaban y las larvas comían únicamente la "gelatina" de la masa de la postura, pronto se morían. También inoculó las masas de huevos de otras cuatro especies de ranas arbóreas con los huevos de *Drosophila* y encontró que los gusanos podían infestar con éxito *Agalychnis callidryas*, *Centrolenella pulcherrata* e *Hyla ebriocata*.

La mayor parte de las larvas de *Drosophila* se alimentan de frutas caídas y otras materias vegetales, pero unas pocas especies se alimentan en las cámaras de las agallas de los cangrejos de tierra y otras se alimentan de las larvas acuáticas de las moscas simuladas. Villa encontró también por lo menos ocho especies de moscas (pertenecientes a varias familias) en las que las larvas se desarrollan dentro de las masas de huevos de anfibios.

#### Multiplicación de papas por cultivos de tejidos

La Facultad de Ciencias de d'Orsay ha desarrollado un método para producir semilla de papa bajo techo haciendo crecer secciones de brotes en un medio artificial, lo que podría reducir el costo y mejorar la calidad. El método está más allá de la etapa de laboratorio y se está probando en 1977 por las dos firmas más grandes productoras de semilla de papa en Francia. Entre las dos venden suficiente semilla para unas 14.000 hectáreas. Usando el nuevo método, se necesitarían sólo 425 papas para producir la misma cantidad de plantas.

La operación se inicia haciendo germinar los tubérculos a 18°C en oscuridad total. Los brotes que se producen se seccionan entonces en fragmentos de 1 cm., que se plantan en tubos que contienen un medio de cultivo de agar-agar (el medio estándar para el cultivo de bacterias), sacarosa y minerales. Estos tubos se mantienen a 19°C y se exponen a la luz por 12 horas cada día.

Las yemas que resultan se seccionan de nuevo y todo el proceso se repite dos a cinco veces, dependiendo de la variedad de papa original. El siguiente paso es poner las plántulas en recipientes de plástico llenos de tierra y humus. Se guardan en un invernadero por un mes y entonces se plantan en campo abierto. Aquí crecen normalmente, y se calcula que un tubérculo puede producir plantas para cubrir no menos de 40 hectáreas, reemplazando 30 toneladas de semilla de papa. Puede ser posible producir dos millones de plantas por año.

Esta aplicación de los métodos de cultivo de tejidos a la multiplicación de plantas (Cf. *Turrialba* 18:6; 19:154; 26:7) es bien conocida, pero ésta parece ser la primera vez que se ha usado en escala comercial para papas. Particularmente importante será para multiplicar rápidamente nuevos clones. El método normal de producir semilla de papa, multiplicando en el suelo las papas básicas puede demorar hasta cuatro años para producir una cantidad equivalente de semilla. Además, las plantas están expuestas a la infección por virus y bacterias que causan enfermedades en la papa, lo que no es el caso en el método de laboratorio.

# Utilización de la gallinaza en la alimentación de bovinos.

## I. Disponibilidad, composición química y digestibilidad de la gallinaza en Costa Rica\* ————— M. E. RUIZ, A. RUIZ\*\*

### ABSTRACT

*A total of 86 samples of layer litter and 41 samples of broiler litter were taken from different poultry operations in Costa Rica, representing 38.9 and 39.6 per cent of the total populations, respectively. The objectives of this research were to study the effects of type of operation, time of accumulation, population density and depth of bedding material on the chemical composition and digestible dry matter content of poultry litter.*

*Most commercial poultry farms are located in the Central Plateau of Costa Rica (88.4% of the total poultry population) which makes it possible to efficiently obtain nearly 60,000 metric tons of poultry feces (equivalent to 67,000 metric tons of poultry litter) per year for cattle feeding.*

*Compared to broiler litter, layer litter has a lower crude protein content (16.2 vs. 23.6%), and high dry matter (92.1 vs. 82.8%) and ash (28.9 vs. 17.5%) contents. Nevertheless, no differences were found in dry matter digestibility (50%). The high ash content of poultry litter imposes a certain limitation on its use in intensive animal feeding systems. Broiler litter was highly variable in its chemical composition, and batch chemical analysis should be carried out before using.*

*Apart from type of bird, time of accumulation is the main factor affecting the chemical composition of poultry litter. Crude protein content in poultry litter increases rapidly during the first weeks of accumulation. However, losses of N through volatilization also increase and are equal to N deposition rate at 8 months in layer litter and 9 weeks in broiler litter. After these points, crude protein content of poultry litter decreases with increased accumulation, since losses are greater than depositions.*

*Ash content increases logarithmically as time of accumulation increases, especially if the birds are raised on dirt floors.*

*Population density is positively related to crude protein and ash content of poultry litter. It also affects the dry matter content negatively. These results are explained by the higher rate of fecal deposition per unit area as population density increases.*

*No significant effect was detected for depth of bedding material. It is possible that the range of depths studied (10-15 cm) was too narrow to allow for the detection of significant effects.*

*Crude protein and ash content are the main components affecting the digestibility of poultry litter dry matter.*

### Introducción

\* Recibido para publicación el 29 de agosto de 1977.

\*\* Nutricionista y Asistente de Investigación, respectivamente. Departamento de Ganadería Tropical, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica.

**C**ONSIDERANDO el alto valor nutritivo de los ingredientes usados en la formulación de raciones de aves, se podría esperar que las excretas

de ave\* contengan una cantidad apreciable de nutrientes utilizables por el rumiante. Un nutrimento de la gallinaza, de alto valor potencial para el rumiante es el nitrógeno, aunque el 50 por ciento de éste está en forma no proteica, del cual el ácido úrico forma alrededor del 50 por ciento (3). Sin embargo, Oltjen *et al* (6), han demostrado que el ácido úrico puede ser utilizado por los microorganismos del rumen para las síntesis de proteína.

Muchos factores pueden afectar la tasa de producción de gallinaza. Sin embargo, es posible obtener estimaciones confiables acerca de su producción. Se ha establecido que la excreta fresca de gallina contiene alrededor de 75 por ciento de agua (4, 9). El peso de la excreta depositada por una gallina confinada en jaula durante 24 horas es de 138 g, o sea, alrededor de 50 kg de excreta/ave/año, equivalente a 12,5 kg de materia seca al año/ave (4, 9). Se ha encontrado que únicamente el 19 por ciento del nitrógeno consumido por el ave se usa en la producción y formación del cuerpo, siendo el restante expulsado en las heces y orina (4). El rescate de este nutrimento y su utilización por el rumiante, no sólo resolvería problemas de contaminación y desecho, sino que también contribuiría a reducir las necesidades de alimentos nitrogenados para ruminantes en los países americanos tropicales. Sin embargo, es necesario contar inicialmente, con información acerca de su disponibilidad y factores que afectan la composición química de este residuo. Este tipo de información no existe o es muy escasa en los países tropicales americanos. En vista de esta situación se planteó el presente trabajo con los objetivos de: a) estimar la producción disponible de gallinaza en Costa Rica; b) evaluar la variación en su composición química por efecto del tipo de explotación, naturaleza del material de cama, densidad de población, y tiempo de acumulación; y c) determinar la digestibilidad *in vitro* de la gallinaza, en función de los factores anteriormente mencionados.

#### Materiales y métodos

Mediante la colaboración de la Dirección General de Estadística y Censos de Costa Rica, se obtuvieron los siguientes datos:

- a) Número de explotaciones avícolas de postura y engorde en Costa Rica;
- b) Localización por provincia, cantón y distrito de dichas explotaciones;
- c) Número total de ponedoras y aves menores de seis meses por provincia, cantón y distrito

\* Para efectos de definición se hace necesario una diferenciación entre excreta y gallinaza. Excreta es el excremento puro, obtenido de gallinas o pollos enjaulados, mientras que gallinaza es el producto resultante de la acumulación de excreta, plumas y alimento desperdiciado sobre un material usado como cama.

La población comercial de ponedoras se calculó mediante la diferencia entre la población total de ponedoras y la población de ponedoras fuera de fincas, utilizando para ello los resultados del Censo Agropecuario de 1973 (5). La población comercial de pollos de engorde se calculó restando de la población total de aves menores de seis meses de edad, la proporción fuera de finca. El resultado incluye tanto hembras de reemplazo como pollos de engorde. Considerando que el reemplazo de gallinas ponedoras es del 30%, consecuentemente se sustrajo esta cantidad de la población de aves menores de seis meses dentro de la finca, obteniéndose así el número de aves de engorde por parvada. También se consideró que los datos del censo representan una fracción de la producción anual de pollos de engorde, ya que es muy común entre granjeros el producir de 4 a 5 parvadas por año; por lo tanto, la población de pollos de engorde, calculada a partir de los datos del censo, se multiplicó por cuatro.

La producción anual de gallinaza en la Meseta Central se calculó considerando la población total de aves de la zona, según el tipo de explotación. Multiplicando la población por la unidad de superficie promedio normalmente asignada por ave (0,20 m<sup>2</sup>/ponedora y 0,10 m<sup>2</sup>/pollo), se obtuvo el área total ocupada por aves. El área se cubrió con el grosor inicial de cama promedio de 15 cm en ponedoras y 10 cm en pollos de engorde.

Por otro lado, se calculó la densidad de la viruta mediante varios muestreos (52,3 kg/m<sup>3</sup>), lo que se utilizó para calcular el peso del total de viruta necesario para mantener la población avícola de la Meseta Central. Finalmente, se calculó la producción anual de excreta a partir de datos encontrados en la literatura (4, 9) que luego fue sumada al peso total de la viruta. El resultado se consideró como la cantidad de gallinaza total que se produce en la Meseta Central.

Se muestrearon 18 explotaciones de postura, con una población total de 477.106 ponedoras, y 10 explotaciones de engorde con una población de 586.660 pollos. Estas poblaciones representan 38,9 y 39,6 por ciento de la población nacional de ponedoras y de pollos, respectivamente.

Se tomaron 88 muestras de gallinaza de ponedoras y 42 muestras de gallinaza de pollos de engorde. Estas fueron tomadas verticalmente hasta tocar suelo en diferentes partes de un mismo gallinero y se clasificaron según el tipo de explotación, tiempo de acumulación, densidad de población, tipo de cama y manejo. Las muestras recolectadas fueron colocadas en bolsas individuales de polietileno y selladas a calor. Las muestras se mantuvieron en congelación hasta el momento de su análisis químico, tratando de reducir a un mínimo las pérdidas de humedad, nitrógeno y material orgánico.

Se realizaron análisis de proteína, ceniza y materia seca según el método proximal (2). La digestibilidad fue determinada por el método de dos fases de Tilley y Terry (10).

Los datos obtenidos dentro de cada tipo de explotación avícola fueron analizados por regresión, tratando de establecer relaciones entre las variables que se presentan en el Cuadro 1.

### Resultados y discusión

#### Producción y disponibilidad de gallinaza

Según los datos obtenidos de la Oficina de Estadística y Censos (5), la población avícola comercial de Costa Rica es de alrededor de 6 millones de aves. Como se puede apreciar en la Fig. 1, la mayor parte se encuentra en la Meseta Central, donde la población avícola constituye el 88,35 por ciento de la población total del país. Las posibilidades de procesar e industrializar la gallinaza son altas, ya que la mayoría de las aves se encuentran concentradas en una zona de tamaño reducido, donde las obras de infraestructura son abundantes y las vías de comunicación con las principales zonas agropecuarias del país son buenas.

La producción anual de excreta y gallinaza en la Meseta Central, según el tipo de explotación, se presenta en el Cuadro 2.

Del Cuadro 2 se puede deducir que la cantidad de gallinaza en base seca es bastante considerable, por lo que se justificaría el tratar de hallar un sistema de utilización de este subproducto en la alimentación animal.

Se encontró que existe una gran variabilidad en la composición y digestibilidad de la materia seca de la gallinaza proveniente de pollos de engorde, siendo esta variabilidad el doble de la encontrada en la de ponedoras (Cuadro 3).

La discusión de los resultados del Cuadro 3 se realizará en los siguientes párrafos.

#### Efecto del tipo de explotación

Tanto el contenido de humedad como el contenido de proteína cruda (PC) fue mayor para la gallinaza proveniente de explotaciones de engorde, en comparación con las de postura, confirmando los resultados obtenidos por Eno (4) y Parker *et al.* (7). El mayor con-

Cuadro 1—Lista de variables en estudio

Variabtes independientes	Variabtes dependientes
Tiempo de acumulación	Contenido de materia seca
Densidad de población	Contenido de proteína, en base seca
Tipo y grosor inicial del material de cama	Contenido de ceniza, en base seca
	Digestibilidad de la materia seca

Cuadro 2.—Producción anual de gallinaza en la meseta central durante el año de 1973.

Tipo de explotación	Número de de aves	Excreta, TM de MS	Equivalente en gallinaza TM de MS
Ponedoras	1 019 114	12 687	15 904
Pollos de engorde	4 416 936	46 946	51 593



Fig. 1. Distribución de la población avícola de Costa Rica.

tenido de proteína de la gallinaza de pollos de engorde es causado por la mayor densidad de población usada en su producción, lo que implica una mayor deposición de heces por unidad de área. Por otro lado, Andrews y McPherson (1) sugirieron, además de la densidad de población, la deposición de heces con un mayor contenido de PC, como consecuencia del uso de raciones de mayor contenido proteico en la alimentación de pollos de engorde. Sin embargo, la gran variabilidad existente en la PC de la gallinaza de pollos de engorde la hace poco confiable desde el punto de vista comercial, a menos que se someta a algún proceso de uniformización proteica.

El mayor contenido de ceniza de la gallinaza de ponedoras podría explicarse por el mayor contenido de minerales de las raciones que comercialmente se usan

en la producción de huevos, y por el hecho de que parte de las muestras analizadas, en pollos de engorde, provenían de granjas de piso de concreto. Se ha encontrado que sobre piso de tierra, este material puede llegar a constituir hasta el 25 por ciento del contenido de ceniza (9). En Panamá, la gallinaza de pollos de engorde, criados en piso de tierra, contiene 45,2 por ciento de ceniza (8). Obviamente, el contenido de ceniza de la gallinaza impone un limitante en el grado en que puede incorporarse en una ración.

Las digestibilidades de la materia seca (DMS) de ambos tipos de gallinaza fueron semejantes, aunque fue más variable en el caso de los pollos de engorde. Considerando el periodo de formación de la gallinaza de pollo (9-10 semanas), es de esperar que este material se encuentre en una fase de inestabilidad fermentativa, lo cual causaría diferentes grados de descomposición de la fibra, afectando así la digestibilidad total del material.

#### Efecto del tipo de material de cama

No se lograron determinar diferencias significativas en el contenido de humedad de la gallinaza a consecuencia del tipo de material de cama. Sin embargo, se detectaron diferencias significativas, debidas al tipo de material, en cuanto al contenido de PC, ceniza y DMS (Cuadro 3). Es muy posible que el alto contenido de ceniza en la cascarilla de arroz (20%) sea la causa del mayor contenido de ceniza encontrado en las muestras de gallinaza formadas sobre este tipo de material. La mayor digestibilidad impartida por la cascarilla de arroz es indicativo de que la viruta es un material muy inerte, poco aprovechable por el rumiante. Es necesario mantener cautela en estas comparaciones, ya que el número

de muestras analizadas para el caso de la cascarilla de arroz fue pequeño ( $n=14$ ), y todas provenían de una misma granja, por lo que no es posible asegurar que éstas eran representativas de gallinaza producida sobre una cama de cascarilla de arroz.

#### Efecto del tiempo de acumulación

En las Figuras 2 y 3 se puede notar un rápido aumento en el contenido de PC durante las primeras semanas de acumulación, para luego comenzar a declinar ligeramente conforme aumenta el tiempo de acumulación.

Durante las primeras semanas, la cantidad de nitrógeno que es depositada con las heces enriquece rápidamente el contenido de nitrógeno de la mezcla total (gallinaza). Este efecto paulatinamente disminuye a medida que la concentración total de nitrógeno aumenta. Teóricamente, debería alcanzarse un valor asintótico; sin embargo, esto no sucede y más bien ocurre una ligera disminución en la concentración de nitrógeno a periodos extensos de acumulación, lo que indica que también ocurren pérdidas de nitrógeno por volatilización (9). Estas pérdidas llegan a ser más importantes que la deposición nitrogenada, a los ocho meses en explotaciones de postura y nueve semanas en las de engorde.

Desde el punto de vista práctico, la disminución en el porcentaje de PC en la gallinaza de pollos de engorde no es importante. En el caso de las ponedoras, sería mejor cosechar la gallinaza a los ocho meses de formación. Sin embargo, los costos adicionales y un sacrificio en la digestibilidad de la gallinaza, hacen que esta posibilidad se elimine en favor de la práctica común de cosechar al final del ciclo de postura.

Cuadro 3 — Composición química y digestibilidad *in vitro* de la gallinaza.\*

Material de cama	POSTURA				ENGORDE	
	Viruta (n=72)		Cascarilla de arroz (n=14) **		Viruta (n=41)	
Fracción:	$\bar{X}$ ***	D E	$\bar{X}$ ***	D E	$\bar{X}$ ***	D E
Materia seca (M.S.), W	92,1 <sub>a</sub>	2,2	90,7 <sub>a</sub>	2,6	82,8 <sub>b</sub>	5,4
Proteína cruda, % de M.S.	16,2 <sub>a</sub>	2,2	17,0 <sub>b</sub>	1,0	23,6 <sub>c</sub>	4,9
Ceniza, % de M.S.	28,9 <sub>a</sub>	6,6	31,9 <sub>b</sub>	4,1	17,5 <sub>c</sub>	6,0
Digestibilidad, % de M.S.	50,3 <sub>a</sub>	8,9	65,0 <sub>b</sub>	6,0	50,0 <sub>a</sub>	12,3

\* Incluye todas las muestras tomadas, sin importar el tiempo de acumulación, densidad de población ni grosor inicial de la cama.

\*\* Los diecisiete datos fueron tomados de una sola granja, por lo que para cada muestra solo varió el tiempo de acumulación.

\*\*\* Datos con diferentes subíndices son significativamente diferentes ( $P \leq 0,01$ ).

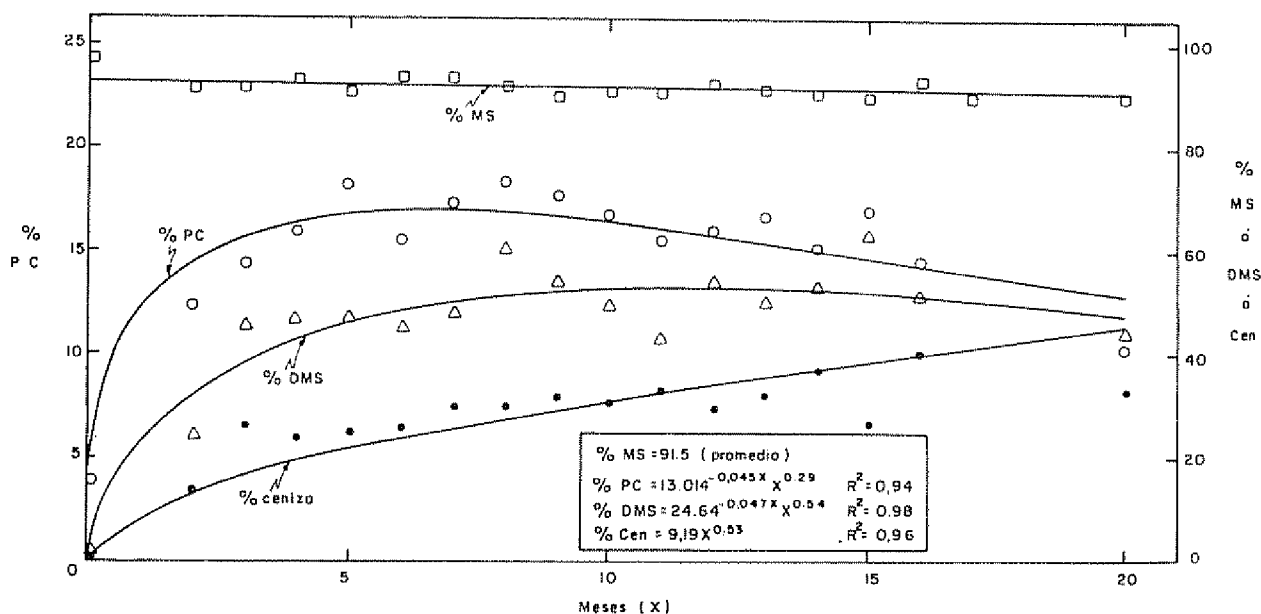


Fig. 2 Efecto del tiempo de acumulación sobre el contenido de materia seca (MS), proteína cruda en base seca (PC) y ceniza en base seca (Cen), y la digestibilidad de la materia seca (DMS) de gallinaza de ponedoras

El contenido de humedad de la gallinaza de ponedoras casi no cambia al aumentar el tiempo de acumulación (Fig. 2). Todo lo contrario, sucede con la de pollos de engorde, notándose un aumento en el contenido de humedad (Fig. 3). La mayor densidad de población usada en la producción de pollos de engorde puede ser la causa del mayor contenido de humedad de su gallinaza.

El contenido de ceniza tiende a aumentar logarítmicamente conforme aumenta el tiempo de acumulación (Figs. 2 y 3). Esto podría ser atribuido a dos causas: a) el efecto mezclante que tienen las aves al revolcarse en la cama, revolviendo este material con tierra, y b) la deposición constante de las heces, ricas en ceniza, aunado al efecto concentrante que produce la volatilización del nitrógeno y las pérdidas de material orgánico de la cama. Según Eno (4), la acumulación de heces puras durante un período de 4 a 10 semanas, puede resultar en pérdidas de hasta el 75 por ciento de nitrógeno y del 50 por ciento de la materia orgánica.

La DMS de la gallinaza tiende a aumentar exponencialmente conforme aumenta el tiempo de acumulación (Figs. 2 y 3). El aumento en el contenido de proteína y la descomposición que sufre el material de cama durante ese tiempo, pueden ser las causas de este aumento en digestibilidad, la cual tiende luego a disminuir hacia el final del ciclo de postura, principalmente a consecuencia de una disminución en el contenido de PC y a un aumento en el contenido de ceniza de la gallinaza (Fig. 3).

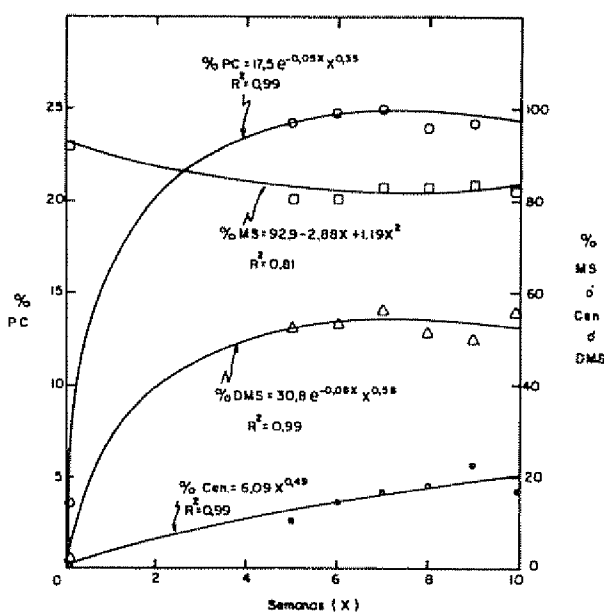


Fig. 3. Efecto del tiempo de acumulación sobre el contenido de materia seca (MS), proteína cruda en base seca (PC), y ceniza en base seca (Cen), y la digestibilidad de la materia seca (DMS) de la gallinaza de pollos de engorde



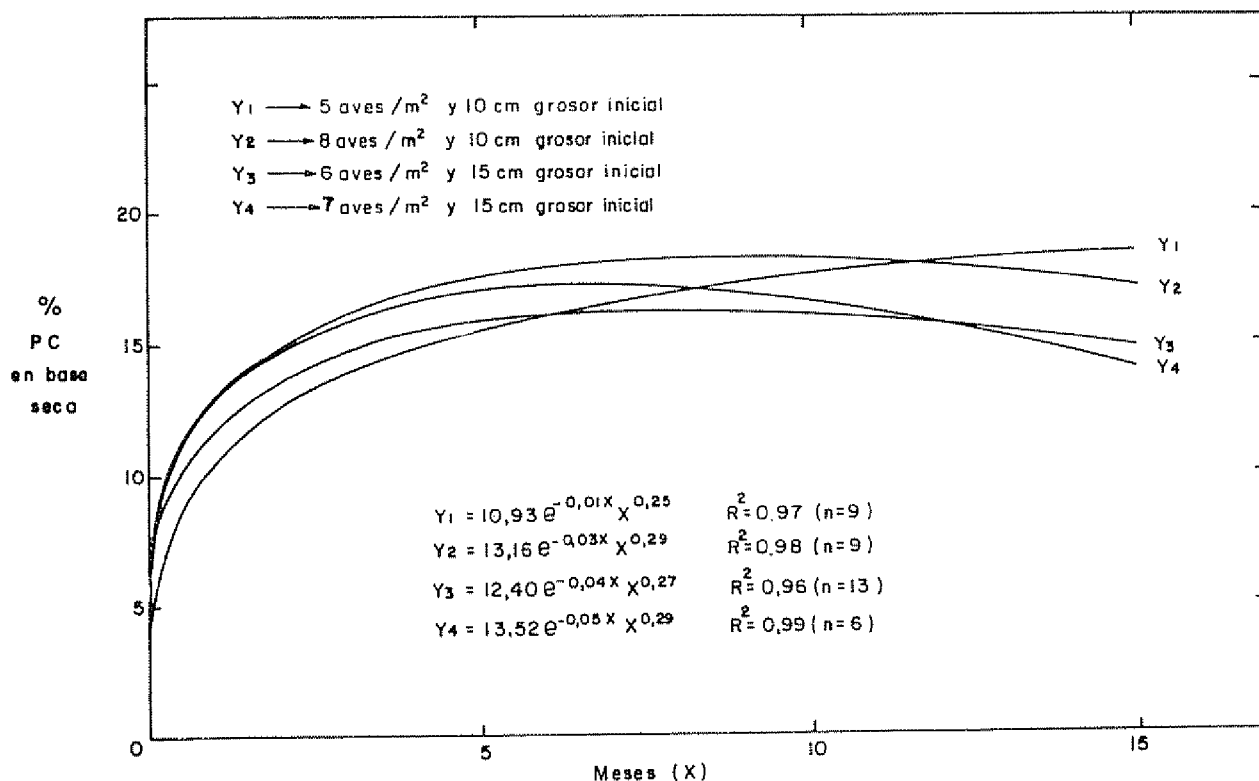


Fig. 4.—Efecto del tiempo de acumulación sobre el contenido de proteína (N x 6,25) en gallinaza de ponedoras, producida con distintas densidades de población y grosores de material de cama

#### Efecto de la densidad de población

El contenido de PC de la gallinaza tiende a ser mayor cuando aumenta la densidad de la población aviar debido, principalmente, a una mayor cantidad de heces depositada por unidad de área. Esto se aprecia claramente al comparar  $Y_1$  vs.  $Y_2$  y  $Y_3$  vs.  $Y_4$  en la Fig. 4. Como se mencionó anteriormente, el contenido de PC de la gallinaza aumenta con el tiempo de acumulación, hasta llegar a un punto en que la cantidad de nitrógeno que se agrega diariamente con las heces es igual que la que se pierde por volatilización, después de lo cual las pérdidas son mayores que las adiciones y el contenido de PC de la gallinaza desciende. Este fenómeno se ve afectado por la densidad de población, ya que ese punto de equilibrio nitrogenado del sistema debe alcanzarse en un tiempo menor al aumentar la densidad de población. Esta suposición está apoyada al comparar los puntos máximos en las curvas de la Fig. 4. En el caso de la gallinaza de pollos de engorde (Fig. 5), el contenido de PC no llega a alcanzar un valor máximo de saturación, probablemente debido al corto tiempo que dura el proceso de engorde (9-10 semanas)

No se logró detectar un efecto consistente de la densidad de población sobre el contenido de ceniza de la gallinaza. Aparentemente el contenido de ceniza aumenta al aumentar la densidad (Fig. 6), resultado muy lógico si se considera que las heces y el efecto mezclante de las aves al revolver el piso, son las fuentes principales de ceniza. En pollos de engorde, el efecto de la densidad de población sobre el contenido de ceniza pareciera ser el opuesto al que se propone en este párrafo (Fig. 7). La diferencia se explica por el hecho de que las muestras que se usaron para calcular  $Y_2$  provenían de granjas con piso de concreto, por lo que se esperaría que el contenido de ceniza de las mismas sea menor, ya que no habría el efecto de la mezcla de la cama con la tierra.

No se pudo encontrar un efecto directo de la densidad de población sobre la digestibilidad de la gallinaza, aunque se encontró paralelismo entre las curvas de DMS y las de contenido de proteína, lo que da apoyo a la proposición que el principal factor que causa variación en la DMS total, es la cantidad de proteína presente en la gallinaza.

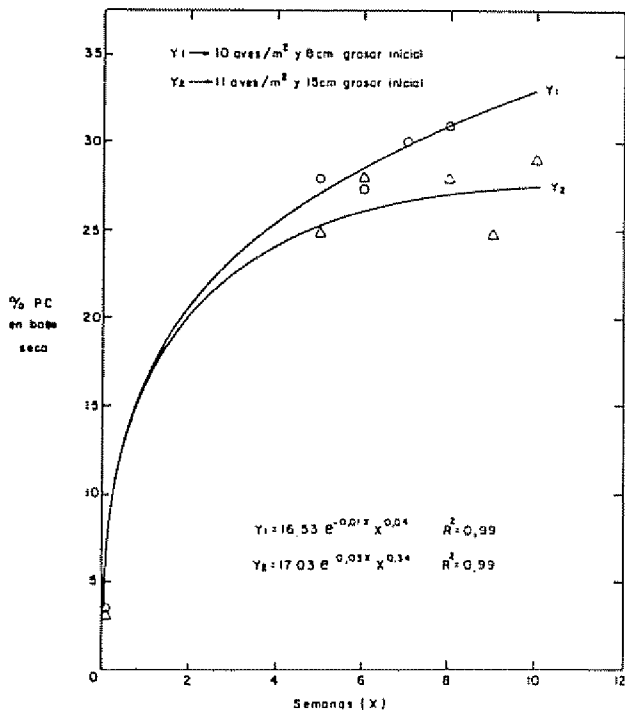


Fig. 5 —Efecto del tiempo de acumulación sobre el contenido de proteína ( $N \approx 6.25$ ) de gallinaza de pollos de engorde, producida con distintas densidades de población y grosores de material de cama.

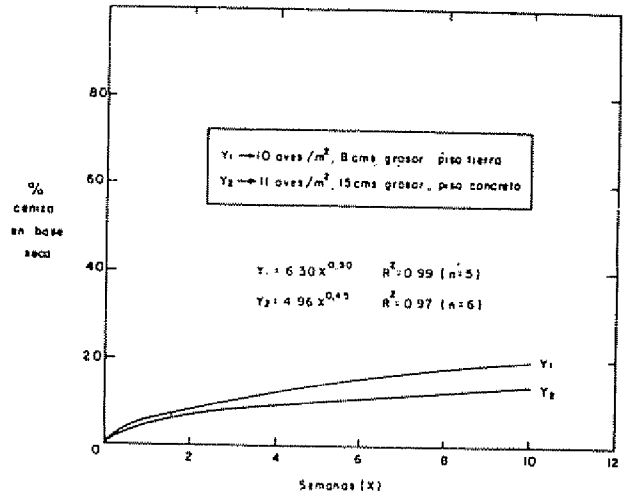


Fig. 6 —Efecto del tiempo de acumulación sobre el contenido de ceniza en gallinaza de ponedoras, producida con distintas densidades de población y grosores de material de cama.

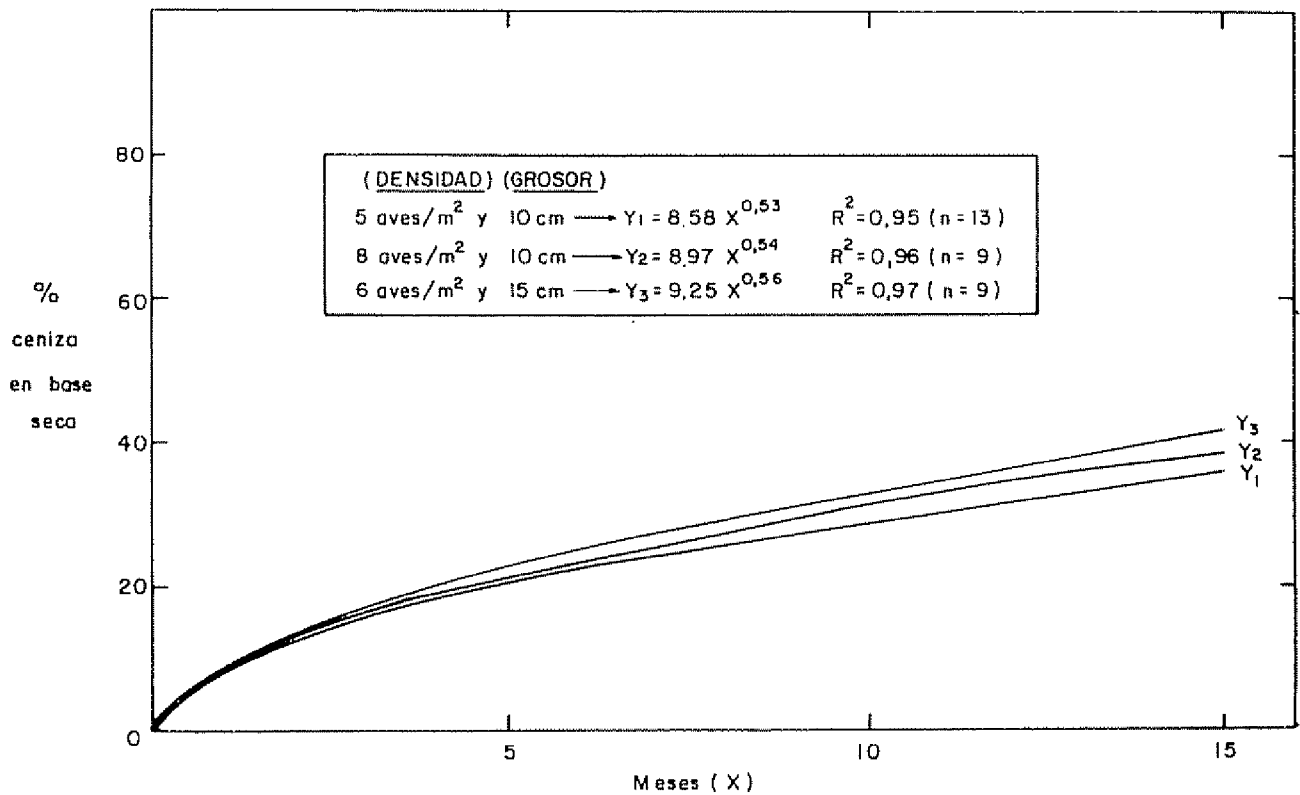


Fig. 7 —Efecto del tiempo de acumulación sobre el contenido de ceniza en gallinaza de pollos de engorde producida sobre distintos tipos de piso y grosores de material de cama.

### Efecto del grosor inicial del material de cama

No se logró detectar ningún efecto significativo del grosor inicial del material de cama sobre cualquiera de los parámetros estudiados. Es muy posible que el rango de grosores estudiados (10 - 15 cm) no fuese lo suficientemente amplio, y que el efecto del grosor inicial haya sido enmascarado por los otros factores ya discutidos.

### Conclusiones

1. El contenido de proteína de la gallinaza de pollos de engorde es mayor que el contenido de proteína de la gallinaza de ponedoras.
2. La gallinaza de pollos de engorde, en comparación con la de ponedoras, contiene menos materia seca y menos ceniza. Sin embargo, ambas son igualmente digeribles.
3. Además del tipo de explotación, el tiempo de acumulación es el principal factor que afecta la composición química de la gallinaza.
4. La densidad de población tiene un efecto positivo sobre el contenido de proteína cruda de la gallinaza.
5. La gallinaza producida sobre pisos de concreto contiene menos ceniza que la producida sobre pisos de tierra, aunque en ambos casos es alta, e impone una limitación al uso de la gallinaza como alimento.
6. Dada la gran variación que muestra la gallinaza de pollos de engorde en su composición química, se recomienda determinar su nivel de proteína y ceniza antes de su utilización.

### Resumen

Se recolectaron 86 muestras de gallinaza de gallinas ponedoras y 41 muestras de gallinaza de pollos de engorde de diferentes explotaciones avícolas de Costa Rica, con el propósito de estudiar los efectos del tipo de operación, el tiempo de acumulación, la densidad de población y el grosor inicial de la cama, sobre la composición química y la digestibilidad de la materia seca de la gallinaza.

Las muestras recolectadas representan 38,9 y 39,6 por ciento de las poblaciones de ponedoras y pollos de engorde, respectivamente.

La mayoría de las explotaciones avícolas (88,4% de la población aviar total) se encuentran localizadas en la Meseta Central, lo que hace factible la industrialización y mercadeo de cerca de 67.000 toneladas métricas de gallinaza, las cuales podrían ser usadas en alimentación de bovinos.

En comparación con la gallinaza de pollos de engorde, la gallinaza de ponedoras tiene un menor contenido

de proteína cruda (16,2 vs. 23,6%, en base seca) y mayores contenidos de materia seca (92,1 vs. 82,8%) y de ceniza (28,9 vs. 17,5). No se encontraron diferencias en la digestibilidad de la materia seca (50%) debidas al tipo de explotación. El alto contenido de ceniza de la gallinaza en general, impone una limitante a su uso intensivo en alimentación animal. La gallinaza de pollos de engorde es un material muy variable en su composición química, por lo que se recomienda su análisis antes de ser usado como alimento.

Además del tipo de explotación, el tiempo de acumulación es el principal factor que afecta la composición química de la gallinaza. El contenido de proteína cruda de la gallinaza tiende a aumentar rápidamente durante las primeras semanas de acumulación. Sin embargo, las pérdidas de N por volatilización también aumentan y llegan a igualar las cantidades depositadas a los ocho meses para la gallinaza de ponedoras y nueve semanas en pollos de engorde. Después de estos puntos, el contenido de proteína cruda de la gallinaza disminuye al aumentar el tiempo de acumulación, debido a que las pérdidas se hacen mayores que las deposiciones.

El contenido de ceniza aumenta logarítmicamente conforme aumenta el tiempo de acumulación, especialmente si las aves son mantenidas sobre pisos de tierra.

La densidad de población está positivamente relacionada con el contenido de proteína cruda y ceniza de la gallinaza. También, afecta negativamente el contenido de materia seca. Estos resultados son explicados por la mayor deposición de heces por unidad de área conforme la densidad de población aumenta.

No se logró detectar ningún efecto significativo debido al grosor inicial del material de cama. Es posible que el ámbito de grosores estudiados fuera muy estrecho (10-15 cm), no permitiendo la detección de efectos significativos.

Tanto la proteína cruda como la ceniza son los factores principales que afectan la digestibilidad de la materia seca de la gallinaza.

### Literatura citada

1. ANDREWS, L. D. y McPHERSON, B. N. Comparison of different types of material for broiler litter. *Poultry Science* 42:2-9. 1963.
2. BATEMAN, J. V. *Nutrición Animal: manual de métodos analíticos*. México, D.F., Herrero, 1970. 463 p.
3. BHATTACHARJEA, A. N. y TAYLOR, J. C. Recycling animal waste as a feedstuff: a review. *Journal of Animal Science* 41:1433. 1975.
4. ENO, C. F. *Chicken manure, its productions, value, preservation and disposition*. University of Florida Agricultural Experiment Station Circular S-140. 1962.

5. MINISTERIO DE ECONOMIA, INDUSTRIA Y COMERCIO. Censos Nacionales de 1973. Agropecuario 53. San José, Costa Rica Dirección General de Estadística y Censos 1974: 534 p.
6. OLIJEN, R. R. *et al.* Evaluation of urea, biuret, urea phosphate and uric acid as nonprotein nitrogen sources for cattle. *Journal of Nutrition* 94:193-196. 1968.
7. PARKER, M. B., PERKINS, H. F. y FULLER, H. L. N, P and K content of poultry manure and some factors influencing its composition. *Poultry Science* 38:1154. 1959.
8. RUILOBA, E. De y RUIZ, M.E. Alimentos potenciales para el ganado en Panamá I. Subproductos y desechos de origen animal (en proceso de publicación)
9. SMITH, L. W. Dehydrated poultry excreta as a crude protein supplement for ruminants. *World Animal Review* 11:6. 1974.
10. TILLEY, J. M. y TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society* 18:104. 1963.

## Notas y Comentarios

### *Alimentación de manzanos por el tallo*

Nadie pensaría en tratar de cultivar manzanos en floreros pero, según un informe reciente (*Annals of Applied Biology* vol 87, N° 103), quizás se podría pensar. P. Baxter y D. West, del Instituto de Investigación Hortícola en Victoria, Australia, han examinado las raíces de manzanos para ver si son realmente tan eficientes como nos imaginamos. Lo que encontraron era que las raíces en realidad presentan un considerable obstáculo al flujo del agua, particularmente si han sufrido daños por los gorgojos del suelo; las raíces a menudo mantienen al resto de los tejidos conductores de agua por debajo de la máxima capacidad de conducción. Así pues, ¿qué pasa si se prescinde de las raíces?

Hace ya mucho tiempo, en 1896, un investigador alemán, Rath, reconoció el potencial de un sistema de alimentación análogo al goteo de glucosa en las venas de los humanos. Este nuevo trabajo convierte sus sueños parcialmente en realidad, pues los australianos tuvieron éxito en alimentar y proporcionar agua a los manzanos a través de las ramas, introduciendo en un extremo un tubo conectado a un pequeño reservorio de polietileno con una solución de vitamina C. En esta forma se aplicó hasta el 90 por ciento de las necesidades de agua del árbol. Las pruebas con la alimentación por goteo en manzanos maduros mostraron un incremento considerable en el tamaño promedio de la fruta.

Antes de que el sistema pueda ser empleado en mayor escala, hay algunos problemas por resolver, especialmente por bloqueo de los conductos del flujo, pero su potencial es considerable. En las zonas más áridas, puede proveer con un riego de volumen muy bajo, a árboles sin desperdicios, pudiéndose suplir nutrimentos extra cuando los del alrededor de las raíces están "atrapados" por una sequía. También podrían aumentarse las posibilidades de supervivencia de frutales recién plantados, ayudándolos a pasar el período crítico sin pelos radicales.

Así, ¿podemos tener manzanos en floreros? Pueda ser que no pero la alimentación por goteo puede estar a la vuelta de la esquina.

### *Cómo sobreviven las plantas a la sal*

Muchas plantas muestran una notable adaptación para sobrevivir en habitats altos en sal, y tienen así un lugar valioso en la colonización y recuperación de pantanos salobres. *Salicornia pacifica* es una de estas plantas y trabajos recientes sobre la forma como almacena y se desprende de la sal han ayudado a comprender cómo pueden sobrevivir estas plantas (*Canadian Journal of Botany* Vol 53, p 1516).

D. J. Weber, H. P. Rasmussen y W. M. Hess de la Brigham Young University, en Provo, Utah, han estudiado *S. pacifica* usando un analizador de rayos X de rastreo electrónico. Usando una sección de tejido vegetal congelado, el analizador de rayos-X puede ser usado para rastrear una sección y puede imprimir la distribución de los varios elementos que contiene.

Weber y su grupo examinaron primero una sección de tallo joven, el que está dividido en células de palizada exteriores, células esponjosas interiores y un tejido vascular central. Cuando esta sección era rastreada se encontraron grandes cantidades de iones de sodio y cloro asociados con el tejido esponjoso. Los tejidos exterior en empalizada y el vascular central demostraron estar libres de sal. Sin embargo, en tejidos más viejos, el cuadro es diferente y aunque el tejido vascular sigue estando libre de Na Cl, tanto el mesofilo como la palizada contienen concentraciones bastante altas.

Con bastante frecuencia, y poco después de que esta condición se alcanza en un tallo, las secciones más viejas saturadas de sal se colapran y mueren. El tejido a ambas partes de estas secciones muertas permanecen verdes y el tejido vascular dentro de la sección muerta continúa funcionando.

*S. pacifica* no tiene glándulas excretoras de sal, el medio por el cual eliminan sal muchas halófitas, y las enzimas que posee no tienen mucha tolerancia a la sal. ¿Cómo entonces se protege el metabolismo de la planta de estas concentraciones altas y siempre crecientes de sal? Parece que las células son capaces de archivar la sal en las vacuolas centrales rodeadas de membranas, protegiendo así a los orgánulos sensitivos a la sal. La concentración de sal de la vacuola se eleva entonces hasta que se hace intolerable y el tejido circunvecino, no pudiendo contenerla más, se colapsa y muere dejando sólo los tejidos conductores sin vida para que mantengan la continuidad de la planta.

### *La algarroba como fuente de azúcar*

Uno de los proyectos de investigación del Instituto Volcani, en Bet Dagan, Israel, es la producción económica de azúcar a partir del fruto del algarrobo europeo, *Ceratonia siliqua*. Los resultados obtenidos en el laboratorio se han calificado como muy promisorios, y se espera repetir las experiencias en una escala mayor (*Innovation* Vol 2, N 21, Agosto 1977).

Los árboles de algarrobo son comunes en Israel y otros países del Cercano Oriente, extendiéndose hasta España. El nombre del fruto, algarroba, se deriva del árabe *al barrûba*, y aparece a mediados del siglo XVI en el idioma castellano. El nombre algarrobo lo usaron los conquistadores de América para designar otros árboles leguminosos (*Propopis*), cuyos frutos son también dulces.

Aunque tienen muchas ventajas, ya que esos árboles prosperan en suelos marginales y requieren relativamente poca agua, han sido descuidados conforme han hecho avances las prácticas agrícolas modernas.

Los científicos de Israel sugieren ahora que esta tendencia debe cambiar de dirección. En lugar de darlo como pienso barato a los caballos, las garrofas, como también se llaman las vainas en España, pueden llegar a ser una fuente de azúcar para varias aplicaciones industriales. En Israel se calcula que este cultivo podría producir 50 mil toneladas de frutos al año, lo que podría rendir 20 mil toneladas de azúcar.

Alrededor del 45 por ciento del fruto de *Ceratonia* es azúcar (un tercio glucosa, dos tercios sacarosa). Un equipo de investigadores, encabezados por la Dra. Eugenia Alumot, ha desarrollado hasta ahora dos procesos. Por un lado, han separado la glucosa de la sucrosa; por otro lado, han desarrollado un método para producir la mezcla de las dos azúcares en forma líquida, para su uso en la industria procesadora de alimentos.

Las proyecciones económicas preliminares indican que el azúcar de algarroba podría competir con la producida de caña y de remolacha. Además, habría importantes beneficios adicionales, tales como la extensión de las actividades de las refinerías de azúcar, y la posibilidad de emplear tierras agrícolas marginales.

#### *Inhibidor de la leucemia extraído de un árbol*

Agujas y ramas, cortadas de un árbol japonés hace más de dos años, están creciendo en medios de cultivo de tejidos en laboratorio para producir compuestos que inhiben la leucemia en ratones de laboratorio. Los encargados del proyecto son N. E. Delfel y J. A. Rothfus del Servicio de Investigación Agrícola de los Estados Unidos (*Agricultural Research*, August 1977).

Algunos colegas de ellos, en el Northern Regional Center, en Peoria, Illinois, encontraron inhibidores de la leucemia en el tejo cirótero (*Cephalotaxus harringtonia*) en 1969 mientras seleccionaban materiales vegetales que contenían compuestos anticancerosos.

Para una evaluación más profunda y para ulteriores investigaciones se necesitan cantidades adicionales de extractos, pero los árboles son escasos en los Estados Unidos y crecen lentamente. El género *Cephalotaxus* es nativo Extremo Oriente y uno de sus principales habitats es el interior de China continental. Como posible solución, se está investigando la producción de compuestos en cultivos de tejidos.

Algunos de los callos de *Cephalotaxus* han estado creciendo más de dos años bajo luces fluorescentes, a 22° a 28° C y con transferencia a un medio fresco cada tres meses.

Los químicos encuentran que tanto el callo como el medio de cultivo contienen cefalotaxina, un compuesto inactivo, y tres inhibidores activos de la leucemia derivados de él: harringtonina, homoharringtonina, e isoharringtonina. La cantidad de estos cuatro alcaloides, o compuestos, aumenta con la edad del cultivo del tejido, de los 3 a los 6 meses.

Los químicos han encontrado un cuarto alcaloide activo, deoxiharringtonina, presente sólo en el medio. La cantidad no aumenta después de los tres meses. Han encontrado también un nuevo ester de cefalotaxina, homodeoxiharringtonina, que también se encuentra sólo en el medio. El hecho de que las células secretan los ésteres activos en el medio es favorable a una posible producción comercial en el futuro.

Aunque los niveles de alcaloides totales son bajos, se cree que los cultivos de tejidos de tejo pueden ser regulados para aumentar la producción de homoharringtonina, el inhibidor de leucemia más activo.

El problema por el momento es producir los alcaloides en las cantidades necesarias para una completa evaluación quimioterapéutica. Por eso, se está trabajando simultáneamente en aumentar el crecimiento del callo, adoptar las células a un medio líquido y aumentar los rendimientos de los inhibidores de la leucemia, especialmente homoharringtonina.

#### *Reunión continental sobre maleza*

En Cali, Colombia, se realizará el Cuarto Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM), del 25 al 27 de enero de 1978. La organización del certamen está a cargo de la Sociedad Colombiana de Control de Malezas y Fisiología Vegetal (COMALFI). Las sesiones tendrán lugar en el Hotel Continental y se elegirá en una de ellas la nueva junta directiva de ALAM. La dirección de COMALFI es: Apartado Aéreo 29688, Bogotá.

#### *Estimación de poblaciones de heterodera de la papa*

Los procedimientos actuales para estimar las poblaciones de los nematodos *Heterodera* de la papa en el campo representa compromisos entre la exactitud y la facilidad de determinación. El trabajo del grupo dirigido por el Dr. H. J. Atkinson, en el Departamento de Zoología Pura y Aplicada de la Universidad de Leeds, Inglaterra, ha mostrado que la medición del contenido de trifosfato de adenosina (ATP) de los quistes proporciona un estimado más rápido y exacto del contenido de huevos viables que los procedimientos usuales basados en conteos más o menos subjetivos de individuos viables (*ARC Research Review* Vol. 3, N° 2, 1977).

El ATP se mide fotométricamente, usando la bioluminiscencia de la luciferina - luciferasa de las luciérnagas. La homogeneización de los quistes de un peso dado de suelo por un minuto en tampón de arseniato es seguida por una lectura de la producción de luz por 30 segundos, cuando esta muestra desconocida de ATP es inyectada en el sistema luciferina - luciferasa. El método es barato, confiable, y tiene suficiente sensibilidad para detectar poblaciones en huevos por grano de suelo bastante por debajo de los umbrales económicos de los nematodos.

Los procedimientos tradicionales son poco confiables para detectar la mortalidad por varios meses después de usar varios esterilizadores de suelo. Sin embargo, trabajos hechos con suelos agrícolas holandeses, donde estos esterilizadores se usan ampliamente en el otoño antes del sembrío de papas, han mostrado que el ATP refleja exactamente la mortalidad poco después del tratamiento. Desafortunadamente, una comparación similar es inapropiada para carbamatos oximas ya que estos parecen matar el nematodo después que han eclosionado los huevos y están invadiendo el cultivo desde el suelo. En este caso, sólo pueden ser de aplicación práctica para los extensionistas los estimados de población de pretratamiento.

#### *Simposio Internacional sobre Fijación del Nitrógeno*

Un Simposio Internacional sobre Fijación Biológica del Nitrógeno tendrá lugar del 12 al 16 de junio de 1978 en la Universidad de Wisconsin, en Madison, bajo los auspicios del Comité de Simposios Harry Steenbock y el Laboratorio de Investigaciones Charles F. Kettering. Las personas interesadas en recibir formularios de solicitud y otras informaciones pueden dirigirse a: 1) W. H. Orme-Johnson, Department of Biochemistry, University of Wisconsin-Madison, Madison, Wisconsin 53706; o 2) W. E. Newton, C. F. Kettering Research Laboratory, Yellow Spring, Ohio 45387.

# Evaluation of cocoa husk in finishing diets for broilers\*—

S A ADEYANJU\*\*, D B A OGUTUGA\*\*\*, E B SONAIYA\*\*, N. ESHIETT\*\*

## COMPENDIO

*La cáscara de cacao fue incorporada, en una base isocalórica e isonitrogenada, en raciones de engorde para pollos de carne en niveles de 0, 10, 15 y 20 por ciento, proporcionándoles ad libitum a pollos de 6 semanas de edad con un peso promedio de 1.22 kg. El comportamiento de los pollos fue evaluado basándose en la ganancia de peso, en el peso final, ingestión de alimentos, relación alimento/ganancia de peso, costos de los alimentos, e ingreso bruto estimado.*

*Los resultados mostraron que a pesar de ocurrir una depresión general conforme aumentaba el nivel de cáscara de cacao en las raciones de engorde, no hubo diferencias significativas en ganancia de peso, peso final, relación alimento/ganancia de peso e ingreso bruto estimado, entre el testigo y cualquiera de las otras dietas. Cuando son alimentados con una base isocalórica e isonitrogenada, los pollos de carne pueden aceptar más de 20 por ciento de cáscara de cacao en sus raciones de engorde. Sin embargo, cuando se toman en cuenta el costo promedio de los alimentos, el costo del alimento por kilogramo y el costo del alimento por kilogramo de ganancia de peso, el alimentar a los pollos con raciones isocalóricas e isonitrogenadas probó ser significativamente menos económico que la ración testigo.*

### Introduction

THE EVER increasing feed cost continues to pose a challenge to animal nutritionists to look for alternatives to conventional feedstuffs which may reduce feed costs without much sacrifice in production efficiency by livestock. Earlier studies (2, 3, 4) have shown that cocoa husks could be a useful feedstuff for livestock. However, owing to the inherent differences among the various classes of livestock, it has been found that they would tolerate cocoa husk in their rations to varying degrees.

This study was therefore designed to evaluate cocoa husks in finishing diets for broiler chickens with a view to determining the level at which it would be acceptable to the chickens.

### Materials and methods

The cocoa husks used in this study were collected from private farms around Ile-Ife, in the Oyo State of Nigeria.

### Processing

The cocoa husks were sun-dried and then ground ready for mixing with other feed ingredients. Whenever it threatened to rain during the drying period, the cocoa husks were packed off the ground so as to minimize the chances of moulds developing on the husks which usually followed after any rain.

### Feeding

Two separate but concurrent feeding experiments were carried out to evaluate cocoa husk in broiler diets. In one experiment 6-week old Cobb broilers (finishers) were fed finishing diets (Table 1) containing 0, 10,

\* Received for publication May 13th, 1977.

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

\*\*\* Cocoa Research Institute of Nigeria, Gambari Experimental Station, Ibadan, Nigeria.

Table 1.—Composition of finishing diets for broilers (% air dry basis)

Feed Components	Levels of cocoa husk in diets (%)			
	0	10	15	20
Corn	54.30	46.50	41.50	37.70
Groundnut cake	18.50	22.00	24.00	26.00
Fish meal	4.00	4.50	5.00	5.00
Cocoa husk	0.00	10.00	15.00	20.00
Palm oil	2.50	4.00	5.00	6.00
Brewers' dried grains	15.50	9.00	5.50	2.00
Rice bran	2.00	1.00	1.00	0.50
Dicalcium phosphate	1.00	0.90	0.90	0.70
Oyster shell	0.90	0.80	0.80	0.80
Salt	0.50	0.50	0.50	0.50
Amprolium	0.05	0.05	0.05	0.05
Vitamin-mineral mix <sup>1/</sup>	0.50	0.50	0.50	0.50
Methionine	0.05	0.05	0.05	0.05
Lysine	0.20	0.20	0.20	0.20
	100.00	100.00	100.00	100.00
<i>Analysis (calculated)</i>				
M E. (kcal/kg)	3,080	3,072	3,073	3,088
CP (%)	20.21	20.05	20.25	20.42
CF (%)	4.06	5.89	6.82	7.70
Available Ca (%)	0.83	0.80	0.83	0.81
Available P (%)	0.42	0.41	0.42	0.45
Lysine (%)	1.07	1.09	1.11	1.12
Methionine & Cystine (%)	0.74	0.72	0.72	0.71

<sup>1/</sup>The Vitamin-mineral mix contained/1000 kg feed the following: Vit. A, 10 million I. U.; Vit. D<sub>3</sub>, 2 million I. U.; Vit. E, 5000 I. U.; Vit. K, 2,240 mg; riboflavin 5,500 mg; Vit. B<sub>12</sub>, 10 mg; Pantothenic acid 10,000 mg; nicotinic acid, 25,000 mg; choline 350,000 mg; folic acid, 1,000 mg; methionine, 450 mg; manganese, 56,000 mg; iodine, 1,000 mg; iron, 20,000 mg; copper, 10,000 mg; zinc, 50,000 mg and cobalt, 1250 mg; respectively.

15 and 20 per cent cocoa husks, respectively, until they were 12 weeks old. These diets were formulated to be isocaloric (3.08 Mcal ME/kg) and isonitrogenous (20.2% CP). Prior to the experiment, the chickens, purchased as day-olds, had been placed on chicks' medicated mash for one week and then switched on to a starter diet containing no cocoa husks (Table 2).

The starter diets containing 0, 10 and 15 per cent cocoa husks, also formulated on isocaloric and isonitrogenous basis, had respectively been fed to another group of Cobb broiler chicks (starters) purchased the same

day as those used in the other experiment from week 1 to 6 after an initial exposure to chicks' medicated mash. At six weeks quadruplicate groups of 10 starters, equalized as to weight, were continued on the starter diets until they were 12 weeks old with the purpose of determining the effect of prolonged feeding of cocoa husk on the performances of the broilers. Simultaneously, the finishers were also allotted to the finishing diets in quadruplicate groups of 10 each on the basis of body weight, equalizing both mean weight and weight

Table 2.—Composition of starter diets for broilers (% air dry basis)

Feed Components	Levels of cocoa husk in diets (%)		
	0	10	15
Corn	51.00	43.40	39.00
Groundnut cake	25.50	27.60	29.50
Fish meal	5.00	6.00	6.50
Cocoa husk	0.00	10.00	15.00
Palm oil	3.00	4.50	0.00
Brewers' dried grains	10.00	3.00	1.00
Rice bran	1.90	1.90	1.00
Dicalcium phosphate	1.25	1.25	1.25
Oyster shell	1.10	1.10	1.00
Salt	0.50	0.50	0.50
Amprolium	0.05	0.05	0.05
Vitamin-mineral mix <sup>1/</sup>	0.50	0.50	0.50
Methionine	0.00	0.05	0.05
Lysine	0.20	0.20	0.15
	100.00	100.00	100.00
<i>Analysis (calculated)</i>			
M E. (kcal/kg)	3,077	3,062	3,072
CP (%)	22.24	22.01	22.20
CF (%)	3.85	5.13	6.58
Available Ca (%)	1.00	1.01	1.04
Available P (%)	0.50	0.51	0.54
Lysine (%)	1.21	1.22	1.20
Methionine + Cystine (%)	0.76	0.77	0.79

<sup>1/</sup> The vitamin-mineral mix contained/1000 kg fed the following: Vit. A, 10 million I. U.; Vit. D<sub>3</sub>, 2 million I. U.; Vit. E, 500 I. U.; Vit. K, 2,240 mg; riboflavin 5,500 mg; Vit. B<sub>12</sub>, 10 mg; pantothenic acid 10,000 mg; nicotinic acid, 25,000 mg; choline 350,000 mg; folic acid, 1,000 mg; methionine, 450 mg; manganese, 56,000 mg; iodine, 1,000 mg; iron, 20,000 mg; copper, 10,000 mg; zinc, 50,000 mg and cobalt, 1250 mg; respectively.

distribution among the groups. Both the starters and finishers were fed their respective experimental diets *ad libitum* and all chickens were given free access to water throughout the experimental period. Weekly and biweekly records of feed intake and body weight changes, respectively, were kept.

The data obtained were treated statistically by analysis of variance, Duncan's new multiple range test and t-test as outlined by Steel and Torrie (8).

*Results and discussion*

Table 3 presents the performances of the broilers fed the finishing cocoa husk diets while a comparison between the performances of the starters and the finishers fed the 0, 10 and 15 per cent cocoa husk starter and finishing diets, respectively, are presented in Table 4.

*Body weight changes*

Although there was no difference in the initial body weights of the finishers, a general but inconsistent depression in growth occurred as the level of cocoa husk increased in the finishing diets. This was indicated

Table 4—Comparison of starters with finishers finished on starter and finishing diets containing corresponding levels of cocoa husk<sup>1/</sup>

Performance	Starters		Finishers	
	S.E.	Mean	S.E.	Mean
Initial body wt (kg)	1.21a	± 0.01	1.22a	± 0.01
Final body wt (kg)	2.77a	± 0.07	3.01b	± 0.07
Body wt gain (kg)	1.56a	± 0.05	1.79b	± 0.06
Feed intake (kg)	5.72a	± 0.03	5.88a	± 0.06
Feed/gain ratio	3.68a	± 0.11	3.31b	± 0.11
Average feed cost (N/ )	1.51a	± 0.02	1.32b	± 0.01
Feed cost/kg (N/ )	0.26a	± 0.01	0.22b	± 0.01
Feed cost/kg body wt gain	0.97a	± 0.22	0.74b	± 0.03
Estimated gross income (N/ )	5.54a	± 0.12	6.03b	± 0.12

<sup>1/</sup> Mean values in the same row with different letters are significantly ( $P \leq 0.05$ ) different.



Table 3—Performance of broiler chickens finished on cocoa husk diets<sup>1/</sup>

Performance parameters	Levels of cocoa husk (%)				S.E. Mean
	0	10	15	20	
Initial body weight (kg)	1.23a	1.22a	1.21a	1.23a	± 0.02
Final body weight (kg)	3.14a	2.93a	2.98a	3.04a	± 0.06
Body wt gain (kg)	1.91a	1.71a	1.77a	1.81a	± 0.07
Feed intake (kg)	5.75a	5.82a	6.07a	5.91a	± 0.08
Feed/gain ratio	3.03a	3.45a	3.43a	3.28a	± 0.15
Average feed cost (N/ ) <sup>2/</sup>	1.14a	1.33b	1.49c	1.47cd	± 0.02
Feed cost/kg (N/ )	0.20a	0.23ab	0.25b	0.25b	± 0.01
Feed cost/kg body gain (N/ )	0.60a	0.79b	0.85b	0.82b	± 0.03
Estimated gross income (N/.)	6.27a	5.85a	5.96a	6.09a	± 0.11

<sup>1/</sup> Mean values in the same row with different letters are significantly ( $P \leq 0.05$ ) different.

<sup>2/</sup> Naira, the Nigerian currency, each of which contains 100k (kobo), is equivalent to U.S. \$1.58.



by both the body weight gain and final body weight data. The 10 per cent cocoa husk diet caused the greatest (6.7%) depression in growth. Beyond 10 per cent, cocoa husk caused a gradual rise in body weight gain and final body weight. None of the differences in these two parameters were, however, significant.

The general depression in growth, which may be due to low nutrient density imparted by the cocoa husk, have also been observed by Ademosun (1) in the utilization of brewers' dried grains in poultry diet, Hutagalung *et al.* (6) in the utilization of pineapple bran by chicks and Adeyanju *et al.* (2) in the utilization of cocoa husk for maintenance of sheep and goats. However, according to Adeyanju *et al.* (4) the inconsistency in growth depression might be due to imbalances in amino acid contents or mineral contents. Also, there might have been adverse effects due to microbial end products present in cocoa husks resulting from microbial activities prior to, and during, the time of their processing as a feedstuff.

Compared with the starters, the finishers gained significantly ( $P < 0.05$ ) more in body weight and were significantly ( $P < 0.05$ ) heavier at 12 weeks than the starters. This result indicated a depressing effect of prolonged feeding of cocoa husk diets to growing chickens and suggests that this by-product is more readily accepted in finishing diets.

#### Feed intake

Although there were slight increases in feed intake as the level of cocoa husk increased in the finishing diets, none of the differences were significant. The slight increases in feed intake observed might be due to an attempt by the chickens to adjust their feed intake to meet their energy requirements. With increasing levels of cocoa husk, the fiber content of the ration increased which usually causes a depressing effect on feed utilization as found Glover and Duthie (5), Hutagalung *et al.* (6) and Adeyanju *et al.* (2). There was very little difference in feed intake between the starters and the finishers.

#### Feed/gain ratio

The feed/gain data also showed a general decline in efficiency of feed utilization as the level of cocoa husk increased. However, while there was as much as 13.9 per cent decrease in efficiency between the control and the 10 per cent cocoa husk diet, there was only a decrease of 8.3 per cent in the 20 per cent cocoa husk diet compared with the control diet. Thus, the result on feed/gain ratio was similar to that on body weight changes in that the 20 per cent cocoa husk was next best to the control diet.

The finishers were significantly ( $P < 0.05$ ) superior to the starters as far as feed utilization was concerned. This difference might be related to a greater ability of older chickens to utilize the crude fibre.

#### Feed costs

As the level of cocoa husk increased in the finishing diets the average feed cost also increased. The difference between the control and all the other diets were significant ( $P < 0.05$ ). Furthermore, both the 15 per cent and 20 per cent cocoa husk diets were significantly ( $P < 0.05$ ) more expensive to feed than the control diet but were only 2 kobo more expensive than the 10 per cent cocoa husk diet as indicated by feed cost/kg data (Table 3). These differences in average feed cost and feed cost/kg were due both to the differences in feed intake and feed utilization.

It has been established from analysis by Ogotuga (7) and Adeyanju *et al.* (2) that the very high crude fibre content of cocoa husk classifies it as a roughage. To feed this roughage on isocaloric and isonitrogenous basis with the control diet, required the increase of the energy and protein components of the diets comprising corn, fish meal, groundnut cake and palm oil (Table 1) as the level of cocoa husk increased. Unfortunately, these ingredients were the very expensive components of the ration. This factor together with increases in feed intake and reduced efficiency of feed utilization as the level of cocoa husk increased, accounted for the significantly ( $P < 0.05$ ) higher feed cost/kg body weight gain in all test diets compared with the control diet.

The finishers were significantly ( $P < 0.05$ ) more profitable than the starters in average feed cost, feed cost/kg and feed cost/kg weight gain. This result was due to the higher efficiency of feed utilization in the finishers compared with the starters.

#### Gross income

At the current market value of 2 Naira per kg live weight the estimated gross income from the sale of the chickens indicated that there was a general but non-significant decline in gross income as the level of cocoa husk increased in the diet. The 10 per cent cocoa husk diet yielded the least income while the 20 per cent cocoa husk diet yielded the next best income to the control, being only 2.9 per cent lower. In spite of the statistically non-significant differences in the estimated gross income, it would appear that the poultry farmer would prefer feeding the 20 per cent cocoa husk diet than either the 10 per cent or 15 per cent cocoa husk diet for the seemingly small differences observed could be highly magnified in any commercial poultry business where a larger number of chickens would be involved.

Compared with the starters, the finishers yielded significantly ( $P < 0.05$ ) higher income than the starters. This was due to the relatively inferior performance of the starters in feed intake, body weight gain, feed/gain ratio and final body weight.

From all the production performance characteristics evaluated in this study, it would appear that broiler chickens would tolerate more than 20 per cent cocoa husk in finishing diets. Furthermore, the consistently superior performances of the finishers compared with the starters indicate that cocoa husk would be better

utilized in finishing diets. Thus, the prolonged exposure of the starters to the cocoa husk diets which were higher in protein contents than the corresponding finishing diets did not confer any advantage on the starter chickens probably because of the depressing effect of crude fibre on protein digestibility observed by Glover and Duthie (5) and Adeyanju *et al.* (2) in ruminants and non-ruminants.

Since it appears that broilers could tolerate more than 20 per cent cocoa husk in their diets without serious deleterious effects on production performance, there is need to re-evaluate the use of cocoa husk in poultry diets with a view to establishing an economic level, if any, at which it can be incorporated into such diets. At present, the only cost incurred from incorporating cocoa husk, which is still a farm crop waste, is that of collection and processing which is still very small especially if the husks are collected in large quantities during the peak of cocoa harvest and are sun-dried.

If an economic level of utilizing cocoa husk in poultry diets could be established, cocoa husk might help in reducing the increasing feed cost in poultry production.

#### Summary

Cocoa husk was incorporated on isocaloric and isonitrogenous basis into finishing diets for broilers at 0, 10, 15 and 20 per cent levels, respectively and fed *ad libitum* to 6-week old broiler chickens averaging 1.22 kg in body weight. The performances were evaluated on the basis of body weight gain, final body weight gain, final body weight, feed intake, feed/gain ratio, feed costs and estimated gross income.

The results showed that although a general depression occurred as the level of cocoa husk increased in the finishing diets, there were no significant differences in body weight gain, final body weight, feed/

gain ratio and estimated gross income between the control and any of the other diets. However, in terms of average feed cost, feed cost/kg and feed cost/kg body weight, feeding cocoa husks on isocaloric, isonitrogenous basis proved significantly less economical than the control diets.

#### Literature cited

- 1 ADEMOSUN, A. A. Evaluation of brewers' dried grains in the diets of growing chickens, *British Poultry Science* 14: 463-468 1973
- 2 ADEYANJU, S. A., OGUTUGA, D. B. A., ILORI, J. O. and ADEGBOLA, A. A. Cocoa husk in maintenance rations for sheep and goats in the tropics. *Nutrition Reports International* 11:351-357 1975
- 3 -----, OGUTUGA, D. B. A., ILORI, J. O. and ADEGBOLA, A. A. Cocoa husk in poultry diets. *Malaysian Agricultural Research* 4: 131-136 1976.
- 4 -----, OGUTUGA, D. B. A., SONAIYA, E. B. and ESHIETT, N. Performances of chicks on diets containing graded levels of cocoa husk. *Nutrition Reports International* 15: 165-170 1977
- 5 GLOVER, J. and DUTHIE, D. W. The apparent digestibility of crude protein by non-ruminants and ruminants. *Journal of Agricultural Science* 51: 289-293. 1958
- 6 HUTAGALUNG, R. I., WEBB, B. H. and JALALUDIN, S. E. D. Evaluation of agricultural products and by-products as animal feeds. I. The nutritive value of pineapple bran for chicks. *Malaysian Agricultural Research* 2: 39-47 1973
- 7 OGUTUGA, D. B. A. Varietal differences in the chemical composition of cocoa husks. *Nigerian Agricultural Journal* 11: 56-60 1974.
- 8 STEEL, R. G. D. and TORRIE, J. H. Principles and procedures of statistics. New York, McGraw-Hill Book Company, 1960. 481 p.

## Notas y Comentarios

### *Un virus como insecticida*

El primer insecticida comercial a base de virus fue anunciado en noviembre en la British Crop Protection de 1977, en Brighton, Inglaterra.

Este insecticida biológico ha sido desarrollado por B. Bassand, de la firma Sandoz Ltd de los Estados Unidos, con el nombre de SAN 240 I, eficaz contra los insectos de la especie *Heliothis*, cuyas orugas atacan las hojas de cultivos importantes como el algodón y el tabaco. Se envasa en forma de polvo humedecible que puede ser almacenado a la temperatura del cuarto (22°C) o congelado, y guardarlo de una campaña a otra.

Las pruebas intensivas han mostrado que es completamente seguro para mamíferos (incluso el hombre), aves, peces e invertebrados: no insectos. El Dr. B. Kassanis, de la estación experimental de Rothamsted, informó que la US Environmental Protection Agency estuvo lo suficientemente impresionada por estos resultados como para exceptuar al producto de los requerimientos usuales sobre tolerancia de residuos cuando se use en el algodón. Las múltiples ventajas de reemplazar los insecticidas químicos por un virus estriban en que el virus es descomponible. Puede ser asperjado como cualquier insecticida sin que produzca daños a los cultivos.

### *Interferon contra virus vegetales*

Uno de los trabajos presentados a la conferencia de Protección Vegetal 1977, en Brighton, Inglaterra, revela el uso de una sustancia que provoca la formación de interferon en las plantas.

Las enfermedades producidas por virus son mucho más difíciles de curar que los ataques fungosos porque cualquier cosa que interfiera con la reproducción del patógeno afectará también al metabolismo de la célula hospedante. El éxito de la inoculación por una dosis subletal de virus muertos o vivos para inducir al cuerpo humano a producir proteínas defensivas (interferon), indujo al Dr. B. Kassanis, de la Rothamsted Experimental Station, a buscar en plantas un mecanismo similar, de una sustancia que indujera a las plantas a producir interferon para su lucha contra el ataque virótico.

Inyectó una solución de ácido poliacrílico a células de plantas de tabaco y encontró que se producía una proteína defensiva, similar al interferon humano, la que hacía a la planta inmune a ataques futuros por tres a cuatro días. Para la planta, el ácido poliacrílico imita estrechamente a los ácidos nucleicos del virus y la hace responder al ataque. La inyección es impracticable en el campo, por lo que se hicieron ensayos usando técnicas convencionales de aspersión, los que tuvieron éxito.

### *Publicaciones*

*The Winged Bean Flyer*. Bajo los auspicios de The Asia Foundation, el Departamento de Agronomía de la Universidad de Illinois, en Urbana, está publicando un boletín noticioso titulado *The Winged Bean Flyer*. Está dedicado al fomento del uso y cultivo de la leguminosa *Prophocarpus tetragonolobus* (L.) D. C., una planta tropical usada en Papua New Guinea y el Sudeste de Asia. Desde que el National Research Council de los Estados Unidos llamó, en varios informes, la atención

sobre esta planta, de la cual se aprovecha para la alimentación humana, desde las hojas y granos, hasta sus tubérculos, se está sembrando experimentalmente en varias partes del mundo. El volumen 1, número 2, de noviembre de 1977, tiene informes de Brasil (Paulo de Alvim) de que se están estudiando sus posibilidades en CEPLAC como cultivo de cobertura en plantaciones de caucho, cacao, y palmera de aceite. En Honduras, la United Fruit Co. ha donado semilla para que se pruebe en varias partes. En Jamaica, Vineyards of Tanoha está multiplicando las semillas para su distribución en la isla. La editora es Joan Levy y la dirección es Department of Agronomy, University of Illinois, Urbana, Ill. 61801.

### *Publicaciones*

*Solidarios*. Con fecha junio de 1977 ha aparecido el primer número de una publicación trimestral, *Solidarios*, órgano del Consejo de Fundaciones Americanas de Desarrollo. El objetivo es dar a conocer las actividades y programas de las instituciones de desarrollo en América Latina y el Caribe, así como divulgar distintos trabajos escritos sobre temas relacionados por esas instituciones. El primer número tiene información sobre el Fondo de Desarrollo Solidarios, la educación popular en Honduras, la vivienda mínima en El Salvador, y la federación de cooperativas agrícolas en Guatemala. La dirección es Apartado 620, Santo Domingo, República Dominicana.

### *Publicaciones*

*Comercio y Desarrollo*. La Secretaría de Comercio de México ha comenzado a publicar, con fecha setiembre-octubre de 1977, una revista bimestral titulada *Comercio y Desarrollo*. Esta destinada a subrayar la importancia determinante que dentro de la economía mexicana representan las actividades comerciales. Publicará, con ese objetivo, estudios y nuevos enfoques en los campos del comercio interior y exterior. El primer número contiene artículos sobre objetivos y programas del sector comercio; el comercio en la economía mexicana; comercio y desarrollo económico, el modelo industrial exportador (sobre la exportación de productos manufacturados), planeación en la empresa y en la economía; aspectos históricos del comercio en México; y notas bibliográficas. Tiene, en páginas separadas, resúmenes en inglés y en francés. El director es Raúl Salinas Lozano. La dirección es: calle de Alfonso Reyes, 30, piso 17, México, D.F.

### *Publicaciones*

*Publicação Especial*. La Sociedad Brasileña de Geología, Núcleo de Bahías, ha iniciado la publicación de una serie titulada *Publicação Especial*, de aparición irregular, destinada a divulgar trabajos científicos y técnicos en el campo de las geociencias, de interés para el Estado de Bahía. El primer número (Número 1) contiene cinco trabajos, traducidos al portugués, publicados originalmente en *American Journal of Science*, *Geological Society of America Bulletin*, y *The Journal of Geology*. Tres de los artículos son de J.C. Branner y dos de O.A. Derby. No hay uniformidad en la presentación; los trabajos de Branner tienen las referencias al pie de cada página, los de Derby lo tienen al final del artículo, pero ni en orden alfabético ni en otro reconocido.

# Variations of free and triglyceride fatty acids in phloem of *Pinus taeda* infected by *Ceratocystis minor*<sup>\*1/</sup>\_\_\_\_\_

EDGAR W CLARK\*\*, JAMES A RICHMOND\*\*\*

## COMPENDIO

*Ceratocystis* spp. (Ascomycetes, Sphaeriaceae) los agentes causales de las enfermedades de manchas azules de los pinos, son transmitidos por gorgojos (Scolytidae). Se supone generalmente que los gorgojos se benefician en esta asociación porque los hongos crean condiciones nutricionales y físicas más favorables. Sin embargo, los cambios bioquímicos que éstos hongos causan en el floema no son conocidos y este estudio fue conducido para determinar los cambios en las concentraciones de los lípidos.

El floema de rollizos de *Pinus taeda* L. fue inoculado con *Ceratocystis minor* (Hedgcock) Hunt. El floema infectado fue analizado para ácidos grasos de libres y de triglicéridos de dos y cinco semanas después de inoculación y los resultados fueron comparados con análisis similares de floema no infectado y del micelio de *C. minor* que fue cultivado por dos semanas en un medio definido químicamente. De los 14 componentes en el floema infectado y no infectado, con características de ácidos grasos, separados por cromatografía gas-líquido, siete fueron identificados como ácidos linoléico, oléico, palmítico, linolénico, mirístico, esteárico y palmitoléico. Solamente los siete ácidos grasos identificados estaban presentes en el micelio. Los contenidos totales de ácidos grasos libres y de triglicéridos disminuyeron en ambos floemas, no infectados e infectados, entre los análisis de dos y de cinco semanas, pero esta disminución fue más grande en el floema no infectado. El contenido total del ácido graso triglicérido fue más grande que el contenido de ácido graso libre en el floema no infectado en ambos periodos. El contenido de ácido graso libre del floema infectado fue más grande que aquel del floema no infectado en ambos periodos. Generalmente los cambios en las concentraciones de los ácidos grasos individuales coincidieron con los cambios en las cantidades totales. Se notaron diferencias en los esteroides, resinas y contenido de agua del floema.

Como aparentemente los insectos no pueden sintetizar ácidos grasos poliinsaturados, estos resultados refuerzan la hipótesis de que *Ceratocystis* mejora las dietas de los gorgojos de pinos. También los datos aumentan nuestro conocimiento bioquímico de *Ceratocystis* sometido a dos regímenes diferentes.

\* Received for publication December 15th, 1976.

1/ We thank Dr. Charles S. Hodges, Jr. USDA Forest Service, Honolulu, Hawaii, for advise in this study.

\*\* Visiting Professor, Institute of Biological Sciences, Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil. Present address: USDA Forest Service, P. O. Box 70, Olustee, Florida 32072.

\*\*\* Research Biologist, USDA Forest Service, Southeastern Forest Experiment Station, Forest Sciences Laboratory, Research Triangle Park, North Carolina.

## Introduction

THE BLUE stain fungus, *Ceratocystis minor* (Hedgcock) Hunt, is commonly associated with *Dendroctonus frontalis* Zimmerman, a very destructive pine bark beetle occurring in both North and Central America. It is one of many symbiotic species of

*Ceratocystis* Ellis and Halstead that is transmitted to host trees by scolytid bark beetles (13, 14). These symbioses are little understood and the degree of interdependency may vary with the specific fungus-beetle association and ecological conditions. Both the fungi and the scolytids can live alone but very rarely do so in nature.\* The fungi benefit because they are disseminated and carried into the trees by the scolytids (13). It is generally believed that the fungi benefit the scolytids through favorable physical or nutritional changes. Leach (13) considered the association to be truly mutualistic because *Ceratocystis* weakens the tree, reduces the water content of the tree, and modifies the micro-environment of the developing brood of beetles. Several researchers (3, 4, 5, 8, 15, 18, 19) concluded that the rapidity of drying of infested pine trees caused by blue stain infections is advantageous to bark beetle broods. Reid (23) correlated a decrease in sapwood moisture with an increase in blue stain infection and concurrent successful development of *Dendroctonus monticolae*. Hopkins, Hodges *et al.* (11) suggested that the increase of insoluble N (protein) in phloem caused by *C. minor* might aid the development of *D. frontalis*. On the other hand, Barras and Hodges (2) speculated that a low C/N ratio in blue-stained phloem might adversely affect brood development or reproduction. Yearian *et al.* (31) found that the development of 3 species of *Ips* was not affected by *C. ips* Rumbold when the adult beetles and the fungus were introduced together in pine bolts. They (with *Ips* spp.) and Barras (1) (with *D. frontalis*) reported that *Ceratocystis* infections were detrimental when adult beetles were introduced into bolts experimentally infected at least 7 days beforehand, a condition unlikely to occur in nature. Norris *et al.* (21) found a nutritional dependency by the scolytid *Xyleborus ferruginens* (F) on its symbiotic fungi [e.g. *Fusarium solani* (Martius) Appel and Wollenweber] for ergosterol which this beetle requires for pupation.

The essentiality of certain lipids and non-essentiality of fat-soluble vitamins indicate that insects may have rather specific fatty acid requirements (10). Richeson *et al.* (25) found that *Ips calligraphus* Germar and its rearing medium, consisting mainly of phloem of *Pinus elliotii* Engelman, contained similar fatty acids of which the 16:0 and 18:1 carbon acids dominated in the scolytid and 18:2 acids in the medium. Because most insects cannot synthesize polyunsaturated fatty acids (28, 29) Richeson *et al.* (25) concluded that the female adult required larger amounts of unsaturated acids (e.g.

The amounts of methyl esters of fatty acids dissolved in redistilled chloroform were determined by a modified gas-liquid chromatography (GLC) procedure (17). A flame ionization detector was used with helium as

the carrier gas (flow rate of 60 ml/minute). The column was 152 cm long, 3.18 mm (1/8 inch) OD, stainless steel, and packed with 15 per cent diethylene glycol succinate on Gas-Chrom Q\* (100-120 mesh). Isothermal parameters of the column, detector, and injector port were 180, 250, and 245°C, respectively. The amount of each fatty acid and unknown was calculated by the method of Kuksis (12) as indicated:

$$\text{mg FA total} = \frac{\text{mg internal standard} \times \text{total FA area}}{\text{area of internal standard}}$$

The areas under the peaks were measured with a planimeter.

Resin acids were tentatively identified by TLC with abietic and pimaric acid standards. Before methylation these acids chromatographed with the FFA. However, they were separated selectively from the fatty acids at methylation because resin acids are not readily methylated with 14 per cent boron trifluoride as a catalyst (9, 17) nor resolved by the above GLC techniques unless methylated with diazomethane (20).

#### Results and discussion

Seven fatty acids common to *C. minor* and the phloem were linoleic, oleic, palmitic, linolenic, myristic, stearic, and palmitoleic (Table 1). Other fatty acids were not detected in the fungus. In addition, seven unidentified compounds were found in phloem samples of which the first four eluted from the GLC column were short chain compounds with less than 10 carbon atoms as indicated by retention times. Palmitic, stearic, oleic and linoleic acids and the predominance of unsaturated acids are common in fungi studied by others (7). Although cultured under somewhat different conditions, the fatty acids and their relative amounts in *C. minor* were similar to those reported by Sprecher and Kubeczka (27) in the mycelia of *Ceratocystis coenulescens* Stamm, particularly in mycelium they cultured under higher oxygen tensions. Unlike these authors, we found no fatty acids above 18:3. These seven fatty acids correspond to the fatty acids of *I. calligraphus* and its artificial diet with a base of phloem from *P. elliotii* (25).

Total TFA and, generally, the individual TFAs were greater than the amount of FFA in uninfected phloem and cultured fungus but FFA was greater in infected phloem. In other words, in the culture medium with a poor carbon source, *C. minor* synthesized fatty acids and stored them as TG whereas it predominantly produced FFA in phloem which has a large carbon source. In the latter, the fungus apparently hydrolyzed the phloem TG or blocked the synthesis of TG by the phloem in addition to FFA synthesis. These results agree with the generalizations in fungal lipid metabo-

\* Clark, E. W. Summary of the 1965 survey and biological studies on the southern pine beetle and its host in Honduras. 24 pp. + 18 illus. 1965. (Unpublished report of insect survey in Honduras in 1965 made by E. W. Clark, J. F. Coyne and W. B. Critchfield. No. HON/TE/FO WCRF under the Expanded Programme for Technical Assistance financed by the United Nations Development Programme). Clark found both *Ceratocystis* and *D. frontalis* alone.

\* Applied Science Laboratories, Inc., State College, Pennsylvania.

Table 1—Free fatty acids (FFA) and triglyceride fatty (TFA)\* in: mycelium of *C minor* after 2 weeks in liquid culture; uninfected phloem after 2 and 5 weeks; and phloem infected by *C minor* after 2 and 5 weeks

Fatty acid	2 weeks		2 weeks				5 weeks			
	Mycelium		Uninfected		Infected		Uninfected		Infected	
	FFA	TFA	FFA	TFA	FFA	TFA	FFA	TFA	FFA	TFA
U**-1	0	0	0.01	0.02	0.01	***	0.02	0.01	***	0.01
U-2	0	0	0.12	0.02	0.01	***	0.04	0.02	***	0.01
U-3	0	0	0.12	0.16	0.01	0.08	0.16	0.08	0.12	***
U-4	0	0	0.20	0.08	***	0.32	0.16	0.08	0.08	0.02
Myristic	0.64	2.64	0.01	0.02	0.01	0.54	0.10	0.04	0.12	***
U-5	0	0	0.32	0.01	***	***	0.08	0.06	0.04	***
Palmitic	0.24	0.72	0.01	1.24	1.68	0.68	0.40	0.28	1.36	0.40
Palmitoleic	0.08	0.04	0.01	***	***	0.16	0.02	0.03	0.01	***
U-6	0	0	***	***	***	0.08	0.02	***	***	***
Stearic	0.24	1.12	0.16	0.30	0.40	0.12	0.10	0.24	0.48	0.16
Oleic	0.72	6.16	0.55	7.92	9.84	2.16	0.32	0.88	4.16	1.44
Linoleic	4.08	9.20	0.42	6.28	3.36	1.88	0.24	1.05	1.52	1.36
U-7	0	0	0.20	0.02	1.04	0.02	***	0.08	0.68	0.01
Linolenic	0.48	2.16	0.24	0.88	1.28	***	0.04	0.04	1.24	0.01
Totals	6.48	22.04	2.38	17.05	17.64	5.84	1.70	2.8	9.81	3.42

\* Mean values (mg/g dry weight) from three replications.

\*\* U = unknown

\*\*\* Less than 0.01 mg/g dry weight, the arbitrary lower limit of quantitation set for this study.

lism that the FFA content varies with cultural conditions and that the relative amounts of FFA increase with any factor that increases fat formation (7)

Decreases in total FFA and TFA occurred with time in both uninfected and infected phloem. However, the changes varied with the individual fatty acids, time, and presence of fungus. At 2 weeks, the total FFA of infected phloem was ca. 7 times and TFA ca. 1/3 of those amounts found in uninfected phloem. In the latter the total TFA was ca. 7 times more than the FFA content. Five weeks after inoculation this general relationship was the same. However, the total amounts of TFA and FFA had decreased appreciably, particularly TFA of uninfected phloem which dropped to ca. 1/6 the amount found in uninfected phloem at 2 weeks. The individual fatty acids usually followed this pattern. At 5 weeks, total FFA and TFA in infected phloem were ca. 5.8 and 1.2 times greater than those amounts found in uninfected phloem, the difference being attributed to the effect of the fungus

*Ceratocystis* would definitely contribute to the nutrition of the female *I. calligraphus*, and presumably other coniferous scolytids, if amounts of polyunsaturated fatty acids in addition to those present in healthy phloem are required for reproductive activities (25). For example, at the end of 5 weeks there was a total of 4.58 mg/g (dry weight) of unsaturated fatty acids in uninfected and 13.23 mg/g in infected phloem. Of the latter, 9.73 mg/g consisted of 18-carbon unsaturated fatty acids, an increase of ca. 74 per cent over the total in uninfected bark (an increase of ca. 67 per cent in total polyunsaturated acids). Hypothetically, the increase in the concentrations of fatty acids in infected phloem could improve the nutrition of *D. frontalis* and *Ips* spp. mass reared on bolts in the laboratory (6) because the techniques used are quite similar to those used herein to culture *Ceratocystis* on bolts. Under these conditions, and if the rates of decrease of fatty acids remained constant, uninfected phloem would have little or no fatty acids in ca. 42 days and the infected phloem would have none in ca. 63 days. Essential fatty acids in unin-

fectured phloem might thus be depleted before the entire brood completed larval development, a period which usually requires 30-70 days in the mass-rearing technique. The dominance of FFA in fungal-infected phloem also may be beneficial because it could simplify larval digestion.

Total extractive, as well as FFA and TFA, decreased in uninfected and infected phloem between the 2- and 5-week periods. However, more extractives were obtained from infected than from uninfected phloem, i.e. ca. 40 per cent of the infected and 9 per cent of the uninfected phloem was extractable at 2 weeks, and 20 and 8 per cent respectively, at 5 weeks. Only 3 per cent of the fungal material was extractable. A large undetermined amount of extractives with physical properties typical of resin acids, based on extraction, TLC, esterification, and other characteristics of the resin acid standards, was found in 2- and 5-week-old infected phloem, but only a trace was present in uninfected phloem. After the removal of the fatty acids, this resin-acid component was, by visual estimation, more than the remaining combined polar and nonpolar compounds on the TLC sheets. Thus, the variation between the amount of extractives in infected and uninfected phloem was largely attributed to resinosis caused by the fungal infection, a phenomenon reported to accompany the invasion of pine tissues by *Ceratocystis* (e.g. 3, 24, 26). Cursory TLC analyses showed sterols to be prominent in the extractives. Beta-sitosterol and a small amount of campesterol were present in both infected and uninfected phloem. Traces of ergosterol and cholesterol were found only in fungal-infected phloem. Further investigations of resin acids and sterol were not undertaken.

The moisture content decreased an average of ca. 5 per cent between the second and fifth week in both uninfected and infected phloem. It was ca. 10 per cent lower in infected phloem than in uninfected phloem, the range in infected phloem being 70-80 per cent at 2 weeks and 60-70 per cent at 5 weeks. The additional moisture loss from infected bolts under standardized laboratory conditions indicates that blue stain fungus, in addition to blocking (longitudinal) water conduction, may increase radial water movement. This process could occur through perforation of the sapwood as a result of the hyphal penetration of the pits and tracheid walls (30) or physiological activities of the fungus.

Clark and Osgood (6) noted a similar moisture loss during the development of techniques for bark beetle rearing. They found that lowered bark moisture definitely favors the development of *D. frontalis* larvae, i.e., for rearing, the upper phloem moisture limit was 80 per cent and the optimal range between 50-60 per cent.

In addition to improved physical conditions, it is conceivable that the decrease in moisture of food ingested by the scolytids might improve phagostimulation and the consumption and utilization of nutrients, and hence the rate of growth and development. McKinlay and Randell (16) showed that removal of the high moisture content of food for *Melanoplus sanguinipes* (F) increased the intake of solids which increased survival and body weight.

### Conclusions

It is not known if *Ceratocystis* causes changes in the concentrations of fatty acids of phloem of bark beetle-infested trees similar to those occurring in bolts artificially infected with fungus in the laboratory. On the assumption that it does, concomitant growth of symbiotic fungi would, in addition to improving moisture conditions, maintain a minimum nutritional supply of fatty acids throughout the larval period. These results thus would support the hypothesis that *Ceratocystis* improves the dietary of pine bark beetles, in particular the speculation of Richeson *et al.* (25) that these symbionts contribute essential fatty acids to the beetle's diet. This study also increases our biochemical knowledge of *Ceratocystis* placed in two different environmental regimes.

### Summary

*Ceratocystis* spp. (Ascomycetes, Sphaeriaceae), the causal agents of blue-stain diseases in pine trees, are transmitted by bark beetles (Scolytidae). It is generally thought that the beetles gain in this association by the fungi creating more favorable nutritional and physical conditions. However, the biochemical changes that these fungi cause in the phloem is not known, and this study was conducted to determine the changes in lipids.

The phloem of bolts of *Pinus taeda* L. was inoculated with *Ceratocystis minor* (Hedgcock) Hunt. The infected phloem was analyzed for free and triglyceride fatty acids 2 and 5 weeks after inoculation, and the results were compared to similar analyses of uninfected phloem and mycelium of *C. minor* cultured for 2 weeks in a chemically defined medium. Of the 14 fatty-acid-like components in both infected and uninfected phloem, resolved by gas-liquid chromatography, seven were identified as linoleic, oleic, palmitic, linolenic, myristic, stearic, and palmitoleic acids. Only the seven identified fatty acids were present in the mycelium. The total triglyceride and free fatty acid contents decreased in both uninfected and infected phloem between the 2- and 5-week analyses, but this decrease was greater in uninfected phloem than in infected phloem. The total triglyceride fatty acid content was greater than the free fatty acid content in uninfected phloem in both periods. The free fatty acid content of infected phloem was greater than that of uninfected phloem at both periods. Generally, changes in the concentrations of the individual fatty acids coincided with the changes in the total amounts. Differences in sterols, resin, and moisture content of phloem were noted.

Because apparently insects cannot synthesize polyunsaturated fatty acids, these findings support the hypothesis that *Ceratocystis* improves the dietary of bark beetles. The results also increase our biochemical knowledge of *Ceratocystis* placed in two different environmental regimes.

### Resumo

Os agentes causais das doenças de manchas azuis dos pinheiros, *Ceratocystis* spp. (Ascomycetes, Sphaeria-

ceae) são transmitidas por besouros (Scolytidae). Supõe-se que os besouros levem vantagem nesta associação porque os fungos poderiam criar condições nutricionais e físicas mais favoráveis para os insetos. Como as transformações bioquímicas que estes fungos causam no floema não são conhecidas, conduziu-se este estudo para determinar as mudanças nas concentrações dos lipídios.

O floema de pedaço de caule de *Pinus taeda* L., com aproximadamente 20 cm de comprimento, foram inoculados com *Ceratocystis minor* (Hedgecock) Hunt. No floema infecto analisaram-se os ácidos graxos livres e os ácidos graxos triglicéridos nos períodos de 2 e 5 semanas seguintes à inoculação. Os resultados foram comparados com análises similares de floema não infectado e do micélio de *C. minor* que foi cultivado por duas semanas num meio definido quimicamente. Dos 14 componentes no floema infectado e não infectado, com as características de ácidos graxos separados por cromatografia gás-líquido, sete foram identificados como ácidos linoléico, oléico, palmítico, linolênico, mirístico, esteárico e palmitoléico. Somente estes setes ácidos graxos identificados estavam presentes no micélio. Os conteúdos totais de ácidos graxos livres e ácidos graxos triglicéridos (18:2) than supplied by the phloem, and that fungi and yeast associated with *Ips* might synthesize them. However, the influence of such microorganisms on the availability of dietary fatty acids during development of scolytids it not known. Because of our interest in the interrelationship of pine bark and their dietary, a study was conducted on the effects of *C. minor* on the free fatty acids (FFA) and triglyceride fatty acids (TFA) of the phloem of *Pinus taeda* L. under laboratory conditions, the results of which are reported herein.

#### Materials and methods

The research for this study was conducted in the Forestry Sciences Laboratory, USDA, Forest Service, Research Triangle Park, North Carolina, U.S.A. FFA and TFA were quantitatively analyzed in 3 regimes: mycelium, uninfected phloem, and phloem on which the fungus was cultured for periods of 2 and 5 weeks. The differences were then compared to determine the availabilities of these acids in the phloem on which *D. frontalis* feeds.

#### Fungus

*C. minor*, isolated from infected phloem of *P. taeda* attacked by *D. frontalis*, was maintained in stock culture on a malt extract agar medium (agar, 25 g; malt extract, 20 g; dextrose, 20 g; peptone, 1 g; and distilled water, 1000 ml). For fatty acid analyses, the fungus was cultured in the following liquid medium originally developed to culture *Hypoxyylon pumatum* (Klotzsch) Cooke (22):

Ingredient	Quantity
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	83 mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	83 mg
KCl	42 mg

FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.24 mg
ZnCl <sub>2</sub>	0.15 mg
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.06 mg
CuCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.05 mg
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.04 mg
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.03 mg
glucose	10 g
asparagine	471 mg
thiamine	0.1 mg
biotin	0.005 mg
water	to make 1 liter

The medium was adjusted to pH 6.0 with glacial acetic acid.

Two hundred and fifty ml of this medium were added to each of 4 culture flasks (2500 ml, low form), the flasks plugged with sterile cotton, capped by aluminum foil, and autoclaved at 1.05 kg/cm<sup>2</sup> for 15 minutes. They were then inoculated under aseptic conditions with 5 ml of an aqueous suspension of *C. minor* grown on the agar medium. These liquid cultures were incubated with no agitation in a darkened transfer room at 25°C. After 2 weeks the mycelia were filtered from the cultures, washed with distilled water, pooled, lyophilized, weighed, and stored at -15°C.

#### Pine phloem

Three 18-year-old pines (*P. taeda*) were felled in February 1970. The trunk of each tree was cut into 9 sections (bolts), approximately 20 cm in diameter and 60 cm long, which were numbered consecutively from the base upward. After sealing the ends with melted paraffin to inhibit moisture loss, the 27 bolts were held for 48 hours in the laboratory before inoculation.

Bolts 3, 6, and 9 of each tree were used as controls, and the remaining 6 were each aseptically inoculated on opposite sides with *C. minor*. At 15 cm intervals a small area of outer bark was smoothed, washed with 70 per cent ethanol, and a plug of outer bark was removed carefully with a sterilized cork borer (15 mm diameter). After the phloem was inoculated, each plug was replaced immediately and the area was sealed with melted paraffin. Both inoculated and control bolts were placed in 761 galvanized cans which were tightly covered to maintain bark moisture. Bolts 1, 5 and 7 were maintained at room temperature for 2 weeks and bolts 2, 4, and 8 for 5 weeks.

Samples of phloem from each bolt were collected at the end of the 2- and 5-week incubation periods. Selection of blue-stain infected phloem was by discoloration and presence of dark mycelia. These samples were weighed, vacuum-dried until weight loss was negligible, and ground in a small Wiley mill through a 20-mesh screen. From these samples, 4 composite samples (infected and uninfected phloem at 2- and 5-week periods) were then made and stored at -15°C.

#### Chemical analyses

Duplicate 500-mg samples of dried mycelium or phloem were extracted for FFA and triglycerides (TG) in a Soxhlet apparatus with diethyl ether for 24 hours.



After removal of the ether over a steam bath, the extracts were weighed, dissolved in redistilled chloroform and the internal standards *n*-heptadecanoic acid and triheptadecanoic acid added. They were then preparatively separated by thinlayer chromatography (TLC). The extracts were streaked on ChromAR 500 or 1000\* sheets, developed with petroleum: ether-diethyl: ether-glacial acetic acid (90:10:1, v/v/v) for a distance of 15 cm, and the compounds were visualized with iodine vapor. Strips containing the FFA and TG were cut from the chromatograms and extracted with 100 ml of chloroform-methanol (1:1, v/v) in a Soxhlet apparatus for 6-8 hours. Total recovery was confirmed by air-drying the extracted strips and treating them with 3-5 per cent ethanolic phosphomolybdic acid. The solvent was removed from the extracts on a steam bath. The TG were saponified with 0.5 N methanolic NaOH for at least 6 minutes. FFA and TFA were methylated for 3 minutes with boron trifluoride-methanol (14 per cent, w/v) (17). Methylation, as determined by TLC, was complete except for the FFA fractions of infected phloem.

diminuíram em ambos os floemas infectados e não infectados entre as análises de duas e cinco semanas; mas esta redução foi maior no floema não infectado. O conteúdo total de ácidos graxos triglicéridos foi maior do que o de ácidos graxos livres no floema não infectado em ambos os períodos. A proporção total de ácidos graxos livres do floema infectado foi maior do que aquele do floema não infectado, em ambos períodos. Geralmente as variações nas concentrações dos ácidos graxos individuais coincidiram com aquelas nas quantidades totais. As diferenças nos esteróides, resinas e conteúdo de água do floema foram anotados.

Porque aparentemente insectos não podem sintetizar ácidos graxos poliinsaturados estes resultados suportam o hipótese que *Ceratocystis* melhora as dietas dos besouros de pinhos. Também os dados aumentam nosso conhecimento bioquímico de *Ceratocystis* mantido em dois regimes diferentes.

#### Literature cited

- BARRAS, S. J. Antagonism between *Dendroctonus frontalis* and the fungus *Ceratocystis minor*. *Annals of the Entomological Society of America* 63:1187-1190. 1970.
- and HODGES, J. D. Carbohydrates of inner bark of *Pinus taeda* as affected by *Dendroctonus frontalis* and associated microorganisms. *Canadian Entomologist* 101:489-493. 1969.
- BASHAM, H. G. Wilt of loblolly pine inoculated with blue-stain fungi of the genus *Ceratocystis*. *Phytopathology* 60:450-454. 1970.
- BRAMBLE, W. C. and HOLST, E. C. Fungi associated with *Dendroctonus frontalis* in killing shortleaf pines and their effect on conduction. *Phytopathology* 30: 881-899. 1940.
- CAIRD, R. W. Physiology of pines infested with bark beetles. *Botanical Gazette* 96:700-733. 1935.
- CLARK, E. W. and OSGOOD, E. A. Southern pine beetles. In Smith, C. B., ed. *Insect colonization and mass production*. New York, Academic Press, Inc., 1966. pp 305-310.
- COCHRANE, V. W. *Physiology of fungi*. New York, John Wiley and Sons, Inc., 1958. 524 p.
- CRAIGHEAD, F. C. Interrelation of tree killing bark beetles and blue stain. *Journal of Forestry* 26:886-887. 1928.
- CROWELL, E. P. and BURNETT, B. B. Micro determination of rosin and fatty acids in tall oil. *TAPPI* 49: 527-528. 1966.
- DADD, R. H. Arthropod nutrition. In Florkin, M. and Scheer, B. T. eds. *Chemical zoology*. Vol 5. Arthropoda, Part A. New York, Academic Press, Inc., 1970. pp 35-87.
- HODGES, J. D., BARRAS, S. J. and MAULDRIN, J. K. Amino acids in inner bark of loblolly pine, as affected by the southern pine beetle and associated microorganisms. *Canadian Journal of Botany* 46:1467-1472. 1968.
- KUKSIS, A. Gas chromatography of neutral glycerides. In Marinetti, G. V. ed. *Lipid chromatographic analysis*. New York, Marcel Dekker, Inc., 1967. pp 293-300.
- LEACH, J. G. *Insect transmission of plant diseases*. New York, McGraw-Hill Book Co., 1940. 615 p.
- , ORR, I. W. and CHRISTENSEN, C. The interrelationship of bark beetles and blue-staining fungi in felled Norway pine timber. *Journal of Agricultural Research* 49:315-341. 1934.
- MATHRE, D. E. Pathogenicity of *Ceratocystis ips* and *Ceratocystis minor* to *Pinus ponderosa*. *Contributions from Boyce Thompson Institute for Plant Research* 22:363-388. 1964.
- MCKINLAY, K. S. and RANDELL, R. I. Moisture content and nutritional value of laboratory diets for the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes* (Orthoptera: Acrididae). *Canadian Entomologist* 103:657-661. 1971.
- MEICALFE, I. D., SCHMITZ, A. A. and PELKA, J. R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry* 38:514-515. 1966.
- NELSON, R. M. Effect of blue stain fungi on southern pines attacked by bark beetles. *Phytopathologische Zeitschrift* 7:327-333. 1934.
- and BEAL, J. A. Experiments with blue stain fungi in southern pines. *Phytopathology* 19:1101-1106. 1929.
- NESILER, F. H. M. and ZINKEL, D. F. Quantitative gas-liquid chromatography of fatty and resin acid methyl esters. *Analytical Chemistry* 39: 1118-1124. 1967.
- NORRIS, D. M., MAKER, J. M. and CHU, H. M. Symbiotic interrelationship between microbes and ambrosia beetles. III. Ergosterol as the source of sterol to the insect. *Annals of the Entomological Society of America* 62:413-414. 1969.

\* Mallinckrodt Chemical Works, St. Louis, MO. Mention of trade names throughout this paper does not constitute endorsement to the exclusion of other products which might also be suitable.

- 22 OSHIMA, N. Physiology of *Hypoxyton pruinaum* - (Klot.) Cke. Ph. D. Thesis. University of Minnesota, 1957. 67 p.
- 23 REID, R. W. Moisture changes in lodgepole pine before and after attack by the mountain pine beetle. *Forest Chronicle* 37:368-375. 1961.
- 24 ———, WHITNEY, H. S. and WATSON, J. A. Reactions of lodgepole pine to attack by *Dendroctonus ponderosae* Hopkins and blue stain fungi. *Canadian Journal of Botany* 45:1115-1126. 1967.
- 25 RICHESON, J. S., NATION, J. I. and WILKINSON, R. C. Fatty acid composition in *Ips calligraphus* (Coleoptera: Scolytidae) during postembryonic development. *Annals of the Entomological Society of America* 64:251-254. 1971.
- 26 SHRIMPTON, D. M. and WHITNEY, H. S. Inhibition of growth of blue stain fungi by wood extractives. *Canadian Journal of Botany* 46:757-761. 1968.
- 27 SPRECHER, E. and KUBECZKA, K. H. Über den Stoffwechsel von Pilzen. I. Die Fettsäurezusammensetzung verschiedener Stämme der Gattung *Ceratocystis* und Ursachen ihrer Veränderung. *Archiv für Mikrobiologie* 73:337-352. 1970.
- 28 SRIDHARA, S. Lipid metabolism of insects. *Journal of Science and Industrial Research* 25:119-127. 1966.
- 29 STEPHEN, W. F. Jr and GILBERT, L. I. Fatty acid biosynthesis in the silkworm, *Hyalophora cecropia*. *Journal of Insect Physiology* 15:1833-1854. 1969.
- 30 WILCOX, W. W. Anatomical changes in wood cell walls attacked by fungi and bacteria. *Botanical Review* 36:1-28. 1970.
- 31 YEARIAN, W. C., GOUGER, R. J. and WILKINSON, R. C. Effects of bluestain fungus, *Ceratocystis ips*, on development of *Ips* bark beetles and pine bolts. *Annals of the Entomological Society of America* 65:481-487. 1972.

## Notas y Comentarios

### Publicaciones

*Veterinaria Tropical*. El Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias, de Venezuela, ha iniciado la publicación de una revista, *Veterinaria Tropical*. Substituye al antiguo *Boletín del Instituto de Investigaciones Veterinarias*, que apareció en 1942. El primer número contiene exclusivamente trabajos originales de investigación, en número de 11, que cubren 136 páginas. La revista tiene el tamaño y formato iguales a *Agronomía Tropical*. El coordinador es Juan E. Rodríguez, y la dirección es CENIAP, Apartado 70, Maracay, Aragua, Venezuela.

*Mazingira*. Con el apoyo del Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) se ha iniciado la publicación de una nueva revista trimestral, *Mazingira*, destinada a crear conciencia sobre la gran variedad de problemas ambientales que existen en nuestro planeta. *Mazingira* significa "medio ambiente" en swahili, que es la lengua bantú hablada en Nairobi, Kenia, donde está la sede del PNUMA. El primer número que tiene fecha de 1977, está dedicado en gran parte al tema del cambio climático. Se espera que en el resto del año se traten otros problemas como la desertificación, y el crecimiento en relación con el ambiente. La revista está editada por la Pergamon Press, en Oxford, su director es Andrés Biró, y tiene ediciones en inglés, francés y español.

*El Cacaotero Colombiano*. Una nueva revista trimestral, *El Cacaotero Colombiano*, apareció con fecha junio de 1977. Es publicada por la Compañía Nacional de Chocolates, de Colombia. Está dividida en cuatro secciones: Producción y Consu-

mo; Agronomía del Cultivo; Extensión y Fomento; y Técnica. El director es Luis Julián Moreno. La dirección es: Apartado Aéreo 717, Medellín, Colombia.

### Coloquio Internacional sobre el Café

El Octavo Coloquio Científico Internacional Sobre el Café del ASIC (Asociación Científica Internacional del Café) se llevó a cabo con mucho éxito en Abidjan, Costa de Marfil del 28 de noviembre al 4 de diciembre 1977.

La Asociación tiene su sede en París y después de los dos primeros Coloquios llevados a cabo en dicha ciudad, los otros se han efectuado cada dos años en distintos países. Después del Coloquio de 1973 en Bogotá se decidió incluir aspectos agronómicos y botánicos además de los químicos dentro de los temas de discusión.

La apertura oficial del Coloquio se hizo por el Sr. Presidente de la República de la Costa de Marfil, Félix Houphouët-Boigny. Se notó en el curso de la reunión un número superior a doscientos delegados de más de 20 países. Los temas discutidos incluyeron: química, tostado, extractos, aroma, calidades organolépticas, efectos debidos a la cafeína, consumo de café y estado de salud, agronomía, fito-mejoramiento, innovaciones agrotécnicas en caficultura, riego, *Hemileia vastatrix* y *coffeicola*.

Hubo 15 conferencias plenarias y 28 comunicaciones sobre trabajos de investigación. Todo este material se publicará en las actas del Coloquio.

Se dedicó un día a la visita de una plantación y de un beneficio de café.

## Reseña de Libros

JACKSON, I. J., *Climate, water and agriculture in the tropics*. London, Longman, 1977 248 p.

Este libro cubre el clima en cuanto éste afecta el balance hídrico, el cual a su vez determina en muchas áreas del trópico el rendimiento de las plantas

Los capítulos uno a cinco tratan el aspecto climatológico de la lluvia y la evaporación, cubriendo aspectos como el ciclo hidrológico, orígenes de la precipitación, variaciones estacionales, de intensidad, duración y frecuencia de la lluvia y por último la evaporación

Los capítulos seis a ocho cubren en forma muy generalizada la relación agua-planta con un enfoque basado en experiencias tropicales. El capítulo nueve y último estudia el impacto del hombre en el ciclo hidrológico.

La primera parte del texto puede servir de referencia en cursos de climatología general o agrícola pues se explica en forma concisa y clara los fenómenos que afectan la precipitación en los trópicos. La segunda sección podría usarse en el capítulo introductorio de cursos como Riego y Drenaje o Producción de Cultivos, todos a nivel universitario, en especial el capítulo siete que incluye las necesidades climáticas por cultivos.

El título del libro es muy ambicioso tanto que el texto cubre sólo un aspecto del clima (precipitación) y apenas si estudia el aspecto agronómico de la relación agua-planta.

ALFREDO ALVARADO  
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
SAN JOSE, COSTA RICA

MEMENTO de l'Agronome; techniques rurales en Afrique, 2a. ed. Paris, Ministère de la Coopération, 1974. 1591 p.

Ahora que está en marcha un proyecto de traducir al español este manual, adaptándolo a la América Latina, y que para esta tarea el gobierno francés ha destinado a un profesional, es conveniente mencionarlo como un breviario muy útil para el agrónomo. Los agrónomos que hemos visto con cierta envidia los gruesos manuales de trabajo, repletos de cifras y fórmulas, que ayudan tanto a nuestros colegas químicos, topógrafos y farmacéuticos, podemos tener una obra similar, en castellano, sobre agronomía tropical.

En más de 1500 páginas apretadas, el libro permite tener una visión resumida de las ciencias agrícolas, proporcionando un gran volumen de datos, evitando al profesional búsquedas largas en su biblioteca y libretas de apuntes.

Después de generalidades sobre el substrato de la agricultura, que abarca geografía y clima, el libro comienza con capítulos de suelos, fertilización y producción de materia vegetal. Siguen las ciencias de ingeniería auxiliares de topografía, teledetección (que incluye sensores remotos), irrigación y drenaje, conservación de suelos y mecanización. Entra después a los cultivos especiales (principalmente tropicales de África), alimentación animal, forrajes, zootecnia (que incluye sanidad y avicultura). Las ciencias económicas siguen después, separadas en general y rural. Termina el libro con sendos capítulos sobre estadística aplicada, informática, y unas 60 páginas de tablas matemáticas de conversión de medidas, actuariales y de cálculos simples.

Esperamos que llegue a cristalizarse con éxito la edición en castellano que se ha propuesto el gobierno de Francia.

INFORMACION BASICA del sector agropecuario de Costa Rica. San José, Oficina Planificación Sectorial Agropecuaria (OPSA), 1977 107 p.

Este es un librito útil que reúne información estadística sobre el sector agropecuario de Costa Rica que estaba dispersa en muchas publicaciones o que no estaba publicada. En 85 cuadros reúne datos sobre aspectos generales de la macroeconomía del país, y estadísticas detalladas sobre su agricultura. Es el tipo de información que todo aquel que inicie un estudio sobre un país tiene que emplear tiempo y esfuerzo en recopilarla antes de entrar en el tema específico que le interesa. Es la parte básica desde la que el investigador se adentra en su exploración y que es conveniente tener ya preparada, como en este caso, para no duplicar una labor previa que otros pueden haber realizado ya. Como obra de consulta es invaluable para el que escribe sobre el país. La información es escueta y sin interpretaciones ni análisis, lo que se deja para que sea hecho por quienes la utilizan para fines específicos. No es difícil predecir que será sometida a una constante demanda, dentro y fuera del país.

Para responder a esta demanda, es conveniente reimprimir el libro con frecuencia, actualizando los datos que contiene. Si esto se piensa hacer, sugerimos se tenga más cuidado en la posición de los cuadros cuando se ponen de costado en una página (Números 20, 24 y 74 por ejemplo), y realizar una lectura más minuciosa de las pruebas; (en el Cuadro 56, hemos encontrado por lo menos 10 nombres científicos mal escritos en un total de 40 especies forestales). Queremos creer que este es el caso extremo y parece ser así; esperamos que para la próxima edición estas fallas desaparezcan para que el usuario de esta obrita de referencia tenga más confianza en los datos que allí encuentre.

# Evaluación nutricional, en cerdos, de la pulpa de café sometida a varios procesos de almacenamiento<sup>\*1/</sup>\_\_\_\_\_

ROBERTO JARQUIN\*\*, RICARDO BRESSANI\*\*\*

## ABSTRACT

*Coffee pulp grown in the same locality was divided into three parts for different treatments. The first was sun-dehydrated, the second ensilaged with 6 per cent molasses and the third also ensilaged with the same percentage of molasses and 1.5 per cent sodium metabisulfite. After the fermentation process the ensiled materials were sun-dehydrated, ground, analyzed, and incorporated into rations for swine at a 16 per cent constant level.*

*The nine-week trial included a total of 40 Landrace pigs with an average initial weight of 61 kg. The animals were distributed into five homogeneous groups of eight animals each, four males and four females, according to weight. The groups were housed in adequate pens with optimum hygienic conditions. Water and feed were supplied ad libitum. Individual weights as well as feed consumption per group were recorded weekly.*

*The process of ensiling increased the ash and cellular content of the pulp, and decreased cellular walls, cellulose and lignin. The pulp treated with sodium metabisulfite showed a marked increase in tannins.*

*The growth response observed does not indicate significant differences among treatments. Nevertheless, the animals showed a tendency for a greater consumption of dehydrated or ensiled and dried coffee pulp without additives. The weight gain and feed conversion of the group fed the sun-dehydrated pulp were similar to those of the control group. The addition of 0.25 per cent of DL-methionine to one of the rations did not improve pulp utilization.*

*It may be concluded that 16 per cent of sun-dried coffee pulp can be safely used as a corn substitute in swine feeding.*

## Introducción

LA PULPA de café se separa del grano aplicando un proceso húmedo, mecánico, de uso muy generalizado en los países productores de café de América Latina. Según se indica en publicaciones previas, la pulpa representa el 43,2 por ciento del fruto maduro (8).

Tanto la pulpa como las aguas de desecho que se eliminan durante el proceso se dejan simplemente a la

\* Recibido para la publicación el 11 de octubre de 1977.

1/ Este trabajo fue financiado con fondos de la Research Corporation, Nueva York, N. Y. (Subvención INCAP N° 740) y del International Development Research Centre (IDRC), Ottawa, Canadá (Subvención INCAP N° 840).

\*\* Científico de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Guatemala, C. A.

\*\*\* Jefe de la citada División.

Publicación INCAP E-932.

intemperie o bien se descartan aprovechando los ríos, contaminando el agua, y acarreado consecuentemente, serios problemas de salud pública. Esto último ha obligado al sector de la salud a establecer medidas de control para evitar al máximo el peligro de contaminaciones por multiplicación de los microorganismos que origina el proceso de putrefacción de este desecho. Si bien es cierto que antes de 1950 hubo interés en el uso de la pulpa de café en nutrición animal, las experiencias efectuadas en aquel entonces, aunque con resultados positivos, no alcanzaron el éxito deseado (12, 22, 25, 26, 28). Sin embargo, la utilización de la pulpa de café de nuevo comenzó a cobrar interés a partir de 1970. Ahora los resultados de investigaciones relativamente recientes permiten concluir que este subproducto puede ser utilizado eficientemente en raciones para rumiantes (3, 4, 5, 9, 10, 14, 20, 24), cerdos (19, 21) y pollos (7). No obstante, es necesario controlar los niveles de pulpa a emplear en las raciones destinadas a distintas especies de animales, debido a la presencia de ciertos factores antifisiológicos como la cafeína, los taninos y algunos compuestos fenólicos libres (13, 18). Hace poco se determinó que la adición de metabisulfito de sodio a la pulpa fresca, previamente a su deshidratación, ocasiona algunos cambios físico-químicos que mejoran la estructura celular y la composición química de la misma (23), lo que sugiere un posible incremento

en la incorporación de este subproducto a las raciones, y una utilización más eficiente del mismo. En vista de lo expuesto, se consideró pertinente estudiar el efecto que el proceso de conservación de la pulpa, con o sin aditivos, ejerce sobre el crecimiento del cerdo.

#### Materiales y métodos

La pulpa de café usada en este trabajo provenía de una misma localidad, y fue transportada en estado fresco a la Finca Experimental del INCAP, situada a una altura de 1 480 m sobre el nivel del mar. El material se dividió en tres partes. La primera fue deshidratada al sol, y molida posteriormente para ser incorporada a una de las raciones experimentales. Una segunda parte fue ensilada con 6 por ciento de melaza y la última también se ensiló con la misma cantidad de melaza pero con el agregado de 1,5 por ciento de metabisulfito de sodio.

Ambos ensilajes fueron preparados en silos de trinchera empleando un sistema sometido a experimentación previa para la elaboración de ensilaje de pulpa de café (16). Los materiales ensilados fueron oportunamente deshidratados al sol, molidos y almacenados en bolsas de papel para luego utilizarlos en la elaboración de las raciones que se describen en el Cuadro 1.

Cuadro 1.—Formulación de las raciones empleando pulpa de café expuesta a diferentes tratamientos.

Ingrediente	Número Internacional de referencia	Raciones				
		1	2	3	4	5
Premezcla (soya-maíz) <sup>a</sup>	4-07-911 + 5-04-604	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
PC deshidratada al sol	1-09-734	—	16,0	—	—	—
PC ensilada con melaza	1-09-734	—	—	16,0	—	—
PC ensilada con melaza y 1,5% de Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	1-09-734	—	—	—	16,0	16,0
Tazol molido	—	8,0	—	—	—	—
Melaza	4-13-251	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Miñerales <sup>b</sup>	—	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Maíz	4-07-911	23,75	15,75	15,75	15,75	15,50
Vitaminas + elementos menores <sup>c</sup>	—	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
DL-metionina	—	—	—	—	—	0,25
TOTALES		100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

PC = Pulpa de café

a 35% de soya y 65% de maíz

b Hegsted, *et al*, Choline in the nutrition of chicks *J Biol. Chem*, 138:4459-4466, 1941

c Manna and Hauge A possible relationship of vitamin B<sub>12</sub> to orotic acid *J Biol. Chem*, 202: 91-96, 1953.

Las raciones experimentales se prepararon a partir de una premezcla de 65 partes de maíz molido y 35 de harina de soya. De esta premezcla se tomó 50 por ciento para cada una de las formulaciones, incluyendo un nivel constante de 16 por ciento de pulpa de café. Con el objeto de uniformizar el contenido de fibra de las raciones se hizo necesario utilizar tazol\* molido en la ración control. Los demás ingredientes de las raciones fueron constantes, salvo el maíz molido que se utilizó para completarlas a 100 gramos.

Las raciones ya elaboradas se sometieron a análisis químico proximal, empleando los métodos oficiales de la AOAC (1). Además del análisis químico proximal, en la pulpa de café deshidratada, sujeta a los diferentes tratamientos, se determinó también su contenido de cafeína (17) y de taninos (1); el fraccionamiento de las paredes celulares se hizo según el método de Van Soest (29) y de Van Soest y Wine (30, 31).

El ensayo de crecimiento se llevó a cabo en un total de 40 cerdos raza Landrace que en un experimento previo habían alcanzado un peso promedio de 61 kilogramos.

\* Término que denota la parte vegetativa y deshidratada de la planta de maíz, desde el punto en que se colecta la mazorca hacia arriba.

Dichos animales se distribuyeron en 5 grupos homogéneos en función a su peso y sexo, quedando así asignados 8 animales por grupo, 4 machos y 4 hembras. Cada grupo de cerdos se alojó en porquerizas de 5 por 2 metros, que se mantuvieron en condiciones óptimas de higiene. A través de todo el ensayo, cuya duración fue de 9 semanas, se administró a los animales agua y alimentación *ad libitum*. Semanalmente se registró su peso individual, así como la ingesta de alimento por grupo.

### Resultados

En el Cuadro 2 se dan a conocer los resultados correspondientes al análisis químico proximal tanto de la pulpa de café sometida a los diferentes tratamientos, como de las raciones elaboradas con ella para propósitos de esta investigación. Según se aprecia, la mayor diferencia entre las diversas muestras de pulpa estriba en el alto contenido de cenizas que acusaron aquellas sometidas al proceso de ensilaje, con y sin la adición de metabisulfito de sodio. Las dos muestras de pulpa ensilada, sin y con la adición de metabisulfito tuvieron una menor cantidad de fibra cruda. Sin embargo, en lo que respecta a las raciones, el análisis proximal no muestra mayores diferencias entre sus distintos componentes.

Cuadro 2 — Análisis químico proximal de pulpa de café expuesta a diferentes tratamientos y de las raciones elaboradas con las mismas (%).

	Humedad	Extracto etéreo	Fibra cruda	Proteína (N x 6,25)	Cenizas	Extracto libre de nitrógeno
Pulpa de café <sup>a</sup>	14,6	2,8	20,2	9,9	5,6	46,9
Pulpa de café <sup>b</sup>	13,4	2,6	17,0	10,1	9,4	47,5
Pulpa de café <sup>c</sup>	12,8	2,8	17,0	10,1	9,8	47,5
Ración N° 1	17,8	2,4	3,7	14,5	5,8	55,8
Ración N° 2	16,7	2,5	4,6	14,7	6,0	55,5
Ración N° 3	16,7	2,5	3,9	14,4	6,2	56,3
Ración N° 4	16,6	2,6	4,4	14,0	6,2	56,3
Ración N° 5	17,6	2,5	3,6	14,7	6,7	54,9

a Pulpa deshidratada al sol no ensilada y sin adición de metabisulfito.

b Pulpa deshidratada al sol ensilada con adición de melaza.

c Pulpa deshidratada al sol ensilada con adición de melaza y metabisulfito.

Los datos referentes al fraccionamiento de las paredes celulares de la pulpa de café sometida a los distintos procesos de conservación se presentan en el Cuadro 3. Como se observa, los resultados indican que el proceso de ensilaje por sí solo eleva el contenido celular, mostrando además una reducción en lo que respecta a paredes celulares, celulosa y lignina. En el mismo Cuadro 3 se incluye información adicional concerniente al contenido de cafeína y taninos del material bajo estudio. La pulpa tratada con metabisulfito de sodio demostró tener mayor cantidad de taninos lo cual era de esperar ya que este agente químico inhibe el empardamiento enzimático, fenómeno éste en el que los taninos juegan un papel importante. El contenido de cafeína en las dos pulpas ensiladas con o sin metabisulfito, fue mayor que en la pulpa fresca deshidratada.

El comportamiento de los cerdos alimentados con las distintas raciones experimentales se resume en el Cuadro 4. Si bien es cierto que el análisis estadístico efectuado no revela diferencias significativas en lo concerniente a ganancias de peso entre los distintos tratamientos, sí se observa cierta tendencia de los animales a favorecer la ración con pulpa deshidratada (Nº 2) o ensilada-deshidratada, sin aditivos (Nº 3), siendo la ganancia de peso y la conversión alimenticia del grupo de cerdos alimentado con pulpa de café únicamente deshidratada al sol, similares a las del grupo control. Los resultados también indican que el agregado de 0,25 por ciento de DL-metionina a una de las raciones no mejoró su utilización.

En lo concerniente al consumo de alimento, se aprecia una ingesta ligeramente mayor de las raciones que contenían pulpa de café deshidratada al sol (Nº 2) y ensilada-deshidratada (Nº 3), registrándose un menor consumo en los cerdos cuya ración tenía pulpa ensilada con metabisulfito (Nº 4), acentuándose esta diferencia

Cuadro 3.—Fraccionamiento de las paredes celulares, contenido de cafeína y de taninos de pulpa de café expuesta a diferentes tratamientos (g/100 g).

	Tratamientos de la pulpa		
	a 1	b 2	c 3
Humedad	14,60	13,40	12,80
Paredes celulares	62,30	48,40	47,30
Ligno-celulosa	57,00	45,50	47,10
Lignina	24,80	18,00	19,20
Celulosa	31,00	27,10	27,80
Hemicelulosa	5,30	2,90	0,20
Cenizas insolubles	1,20	0,40	0,60
Cafeína	0,35	0,65	0,63
Taninos	2,62	2,18	3,61

a, b, c Véase notas identificadas con las mismas letras al pie del Cuadro 2

en la ración en que se incorporó el aminoácido metionina (Nº 5). La conversión alimenticia revela un leve descenso en el caso de todas las raciones preparadas con pulpa de café.

Cuadro 4.—Comportamiento de los cerdos alimentados con las distintas raciones experimentales

	Raciones Nº				
	1	2	3	4	5
Peso promedio inicial por cerdo (kg)	61,4	60,9	61,3	60,9	61,6
Peso promedio final por cerdo (kg)	104,9	105,1	100,6	98,4	94,1
Consumo de alimento por animal (kg)	213,6	223,8	221,7	194,0	174,0
Consumo diario por cerdo (kg)	3,39		3,52	3,08	2,76
Aumento de peso por animal (kg)	43,5	44,2	39,3	37,5	32,5
Aumento diario de peso por cerdo (kg)	0,691	0,701	0,623	0,595	0,517
Eficiencia de conversión del alimento	4,9	5,1	5,6	5,2	5,3
Consumo de pulpa de café, kg/cerdo/día	—	0,568	0,563	0,493	0,442
Consumo total de pulpa de café por animal (kg)	—	35,8	35,5	31,0	27,8

### Discusión

La premezcla de maíz y soya empleada en la elaboración de las raciones experimentales se formuló en base a estudios biológicos realizados con ratas, y representa la combinación del valor proteínico óptimo entre la proteína de soya y la de maíz (6); además, esta misma premezcla ha rendido resultados satisfactorios en ensayos efectuados en cerdos en diferentes etapas de crecimiento y desarrollo (19, 21). La incorporación de 16 por ciento de pulpa de café deshidratada y molida en las distintas formulaciones obedeció a informes que sugieren éste como el nivel óptimo a emplear en raciones para cerdos (19, 21). El análisis químico proximal de las diferentes pulpas, descrito en la Sección precedente, refleja resultados similares a los notificados por otros investigadores (7, 8). Ocurre una reducción en el contenido de fibra cruda en la pulpa ensilada, y en la ensilada y tratada con metabisulfito, así como un incremento en el contenido de cenizas de ambas pulpas con respecto a la ración control. Sin embargo, el análisis proximal de las diferentes raciones muestra diferencias tan pequeñas entre sí que prácticamente pueden considerarse como isoproteínicas e isocalóricas, con un nivel de proteína y de fibra adecuado para la edad y el peso de los animales bajo experimentación.

El análisis de los resultados en cuanto a la composición química de la pulpa y del fraccionamiento de la fibra, revela que el solo proceso de ensilaje así como la adición de metabisulfito de sodio al momento de ensilar, rinden un producto con cambios favorables en el fraccionamiento de las paredes celulares. Estos resultados corroboran los informados por Murillo y colaboradores (23) al adicionar metabisulfito de sodio en diferentes concentraciones a la pulpa fresca y luego deshidratada al sol, o bien deshidratada mecánicamente. No obstante, es de interés mencionar que el proceso de ensilaje por sí solo aumenta el contenido celular y reduce la concentración de lignina y celulosa.

Se ha informado que la pulpa de café tiene un alto contenido de compuestos fenólicos de bajo peso molecular, los que, después de sufrir empardamiento enzimático por procesos oxidativos, forman compuestos que contienen grupos quinónicos que pueden combinarse con las proteínas, modificando las propiedades biológicas de las mismas. Por otra parte, se sabe también que los compuestos de alto peso molecular como los taninos pueden formar compuestos insolubles con las proteínas (11, 15, 27), y que para impedir que estas dos reacciones ocurran es necesario evitar la oxidación de los compuestos fenólicos libres e impedir la formación del complejo tanino-proteína; esto se logra por medio de la adición de un compuesto reductor como lo es el metabisulfito de sodio.

En el presente trabajo se pudo determinar un mayor contenido de taninos en la pulpa adicionada de metabisulfito, lo que bien podría haberse debido a un bloqueo oxidativo inducido por el agente reductor empleado. A pesar de ello, los cambios físico-químicos observados en la pulpa de café sometida a los distintos tratamientos y que pueden considerarse como favorables desde el punto de vista químico-estructural para el material en estu-

dio no reflejan ninguna mejora en su calidad nutritiva al analizar los resultados de la respuesta biológica de los cerdos (Cuadro 4). Si bien es cierto que no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos, la sola adición de metabisulfito produjo un crecimiento más lento y una sensible baja en el consumo de alimento. Por otra parte, en base a los resultados obtenidos al alimentar a los animales con pulpa deshidratada al sol y pulpa ensilada-deshidratada, se puede concluir que no existe ninguna relación entre la ingesta de pulpa y el contenido de cafeína y taninos de las mismas. Este hecho sugiere que la concentración de estos compuestos en la pulpa de café utilizada empleando un nivel de 16 por ciento en la ración, no ejerce ningún efecto perjudicial en el crecimiento de los cerdos.

La incorporación del aminoácido DL-metionina a una de las raciones experimentales se hizo a partir de resultados preliminares obtenidos en nuestros laboratorios, los cuales indican una mayor excreción de sulfatos en la orina de animales alimentados con pulpa de café. Asimismo, se ha informado que la adición de metionina contrarresta el efecto detrimental de los taninos (2). Ajeno a ello, si el metabisulfito impide la oxidación de los fenoles libres éstos pueden ser absorbidos por el animal y eliminados en la orina como glucuronatos o sulfatos, lo que implica el uso de aminoácidos azufrados y, por consiguiente, una mayor demanda de éstos; sin embargo, en el presente estudio, la adición de 0,25 por ciento de DL-metionina produjo menores ganancias de peso y una notoria reducción en el consumo de alimento. Los efectos negativos en cuanto a crecimiento y consumo de alimento observados con la pulpa adicionada de metabisulfito podrían atribuirse a la alta concentración del agente reductor empleado. Esto es de presumir, ya que si se adicionó 1,5 por ciento de metabisulfito a la pulpa en base húmeda, al deshidratarla la concentración aumentó considerablemente pudiendo así alcanzar un nivel tóxico.

El hallazgo de que la pulpa de café ensilada es similar a la no ensilada en lo que a la respuesta en crecimiento de los cerdos concierne, puede considerarse como una solución adecuada al problema del alto contenido de humedad de la misma al momento de despulpar el fruto; ello es obvio, dado que permite su almacenamiento y conservación sin alterar su valor nutritivo, para deshidratación posterior. No hay que olvidar que gran parte del fruto de café se procesa en la época lluviosa, que es cuando el caficultor aprovecha todas las facilidades físicas y condiciones ambientales apropiadas para la deshidratación del grano; además, la incorporación de 16 por ciento de pulpa deshidratada y molida a raciones para cerdos, en sustitución del maíz, ofrece un mercado prometedora para un material que todavía se sigue catalogando como desecho agrícola.

### Resumen

Se estudió pulpa de café proveniente de una misma localidad dividida en tres partes: la primera se deshidrató al sol; la segunda fue ensilada con 6 por ciento de melaza, y la última con la misma cantidad de melaza y 1,5 por ciento de metabisulfito de sodio. Los materia-



les ensilados también fueron oportunamente deshidratados al sol, molidos, analizados y almacenados para su utilización a un nivel constante de 16 por ciento en la elaboración de raciones para cerdos.

El ensayo, de nueve semanas de duración, incluyó un total de 40 cerdos Landrace cuyo peso promedio era de 61 kg. Estos fueron distribuidos en 5 grupos homogéneos, en función a su peso y sexo, de 8 animales cada uno, 4 machos y 4 hembras. Cada grupo se alojó en porquerizas adecuadas, las que se mantuvieron en condiciones higiénicas óptimas. El agua y el alimento fueron suministrados *ad libitum*. Semanalmente se registró el peso individual, así como la ingesta de alimento por grupo.

El proceso de ensilaje reveló un aumento del contenido de cenizas de la pulpa así como de su contenido celular, y una reducción en lo que respecta a paredes celulares, celulosa y lignina. En la pulpa tratada con metabisulfito de sodio el contenido de taninos aumentó.

La respuesta en crecimiento no acusó diferencias significativas entre los distintos tratamientos. Sin embargo, los animales mostraron cierta tendencia a consumir más pulpa deshidratada o ensilada-deshidratada, sin aditivos, siendo la ganancia de peso y la conversión alimenticia del grupo alimentado con pulpa de café solo deshidratada al sol, similares a las del grupo control. La adición de 0,25 por ciento de DL-metionina a una de las raciones no mejoró la utilización de la pulpa. Los resultados permiten, pues, concluir que es factible utilizar un 16 por ciento de pulpa de café, solo deshidratada al sol, como sustituto del maíz, en la alimentación porcina.

#### Literatura citada

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis of the AOAC 11th ed. Washington, D.C., The Association 1970 957 p.
- ARMANIOUS, M. W., BRITTON, W. M. y FULLER, H. I. Effect of methionine and choline on tannic acid and tannin toxicity in the laying hen. *Poultry Science* 52: 2160-2168 1953.
- BARA, H. M., ESPINOZA, F. M. y GUERRERO, M.S. Determinación del nivel adecuado de pulpa de café en la ración de novillos. Santa Tecla, El Salvador, Instituto Salvadoreño de Investigaciones del Café (ISIC) 1970 8 p. (Boletín Informativo N° 92).
- BRAHAM, J. E., JARQUIN, R., GONZALEZ, J. M. y BRESSANI, R. Pulpa y pergamino de café III. Utilización de la pulpa de café en forma de ensilaje. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 23: 379-388 1973.
- BRESSANI, R., CABEZAS, M. T., JARQUIN, R. y MURILLO, B. The use of coffee processing waste as animal feed. In: *Proceedings of the Conference on Animal Feeds of Tropical and Sub-Tropical Origin*, London, England, 1-5 April, 1974. London, England, The Tropical Products Institute 1975 p. 107-117.
- y ELIAS, I. G. All-vegetable protein-mixtures for human feeding. The development of INCAP vegetable mixture 14 based on soybean flour. *Journal of Food Science* 31: 626-631 1966.
- BRESSANI, R., ESTRADA, E., ELIAS, I. G. y JARQUIN, R. y URRUTIA DE VALLE, L. Pulpa y pergamino de café IV. Efecto de la pulpa de café deshidratada en la dieta de ratas y pollos. *Turrialba* 23 (4): 403-409 1973.
- y JARQUIN, R. Pulpa y pergamino de café I. Composición química y contenido de aminoácidos de la proteína de la pulpa. *Turrialba* 22 (3): 299-304 1972.
- CABEZAS, M. T. Utilización de pulpa de café para la alimentación de ganado bovino. *Boletín Informativo de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP. VII. Revista "AGA" (Guatemala)*, Año 16 - Epoca IV - N° 26: 16-19 1973.
- , MURILLO, B., JARQUIN, R., GONZALEZ, J. M. y ESTRADA, E. Pulpa y pergamino de café VI. Adaptación del ganado bovino a la pulpa de café. *Turrialba* 24 (2): 160-167 1974.
- DRIEDGER, A. y HATFIELD, E. E. Influence of tannins on the nutritive value of soybean meal for ruminants. *Journal of Animal Science* 34: 465-468 1972.
- ECHAVARRIA, G. La pulpa de café como alimento para el ganado. *Revista Cafetera de Colombia* 8(15): 3310-3313 1947.
- ESTRADA, E. Cafeína y Taninos como Factores Limitantes en el Uso de la Pulpa de Café en la Alimentación de Ternero. Tesis (*Magister Scientiæ*) Centro de Estudios Superiores en Nutrición y Ciencias de Alimentos (CESNA) Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala/INCAP 1973.
- FLORES RECINOS, F. Respuesta Bio-Económica de Novillos en Engorde Alimentados con Diferentes Niveles de Pulpa de Café Ensilada y Proteína. Tesis de Grado (*Magister Scientiæ*). Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. Turrialba, Costa Rica 1973 61 p.
- GLICK, Z. y JOSLYN, M. A. Effect of tannic acid and related compounds on the absorption and utilization of proteins in the rat. *Journal of Nutrition* 100: 516-520 1970.
- GONZALEZ, J. M. Boletín Informativo de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP VIII. Preparación de ensilaje de pulpa de café. Revista "AGA" (Guatemala), Año 16 - Epoca IV - N° 27: 16-19 1973.
- ISHLER, N. H., FINUCANE, I. P. y BORKER, E. Rapid spectrophotometric determination of caffeine. *Analytical Chemistry* 20: 1162-1166 1948.
- JAFFE, W. y ORTIZ, D. S. Notas sobre el valor alimenticio de la pulpa de café. *AGRO (Venezuela)* 23: 31-37 1952.
- JARQUIN, R., GOMEZ-BRENES, R. A., BERDUCIDO L. y BRESSANI, R. Efecto de los niveles proteínicos y de la pulpa de café en raciones para cerdos criollos. *Turrialba* 27 (2): 179-185 1977.
- , GONZALEZ, J. M., BRAHAM, J. E. y BRESSANI, R. Pulpa y pergamino de café II. Utilización de la pulpa de café en la alimentación de ruminantes. *Turrialba* 23 (1): 41-47 1973.
- , ROSALES, F. A., GONZALEZ, J. M., BRAHAM, J. E. y BRESSANI, R. Pulpa y pergamino de café IX. Uso de la pulpa de café en la alimentación de cerdos en la fase de crecimiento y acabado. *Turrialba* 24 (4): 353-359 1974.

- 22 MADDEN D. E. The value of coffee pulp silage as feed for cattle. Tesis de grado (*Magister Scientiae*), Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas Turrialba, Costa Rica. 1948. 58 p
- 23 MURILLO, B., CABEZAS, M. T., JARQUIN, R. y BRESSANI, R. Effect of bisulfite addition on the chemical composition and cellular content fractions of dehydrated coffee pulp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 25(5): 1090-1092 1977.
- 24 OSEGUEDA JIMENEZ, F. L. *et al* Uso de la pulpa de café seca en el engorde de novillos en confinamiento. *Agricultura de El Salvador* 10: 3-9 1970
- 25 SQUIBB, R. L. El empleo de la pulpa de café como alimento de ganado. *Revista de Agricultura (Costa Rica)* 17: 389-401. 1945
- 26 ——— El ensilaje de pulpa de café en el engorde de becerros. *La Hacienda* 40 (9): 438-441 1945
- 27 VAN BUREN, J. P. y ROBINSON, W. B. Formation of complexes between protein and tannic acid. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 17: 772-777 1969
- 28 VAN SEVEREN, M. I. y CARBONELL, R. Estudios sobre digestibilidad de la pulpa de café y de la hoja de banano. *Café de El Salvador* 19: 1619-1624 1949
- 29 VAN SOEST, P. J. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *Journal of the Association of Official Agriculture Chemists* 46: 829-835 1963
- 30 ——— y WINE, R. H. Determination of lignin and cellulose in acid-detergent fiber with permanganate. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 51: 780-785 1968
- 31 ——— Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cellwall constituents. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 50: 50-55 1967

## Reseña de Libros

VELEZ HERNANDEZ, JAIME Crédito Rural San José, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1977. 306 p. (Serie de Libros y Materiales Educativos N° 31). US\$ 5,50.

De la lectura de los diferentes capítulos que contiene la obra, se puede colegir el amplio dominio y versado conocimiento que sobre la materia hace gala el autor.

En realidad se trata de un libro que por su contenido y claridad en la exposición de los diferentes temas del crédito rural, se considera muy valioso, tanto para los estudiantes en esa disciplina, como también para material de consulta a los profesionales que laboran en Instituciones Bancarias o de Fomento Rural en los diferentes países de América Latina.

En cursos de Crédito Agrícola, y en aquellos de economía agrícola que tengan capítulos sobre crédito, la obra puede servir de lectura obligatoria para los estudiantes que siguen esos cursos.

Como este excelente libro va a tener más de una edición, se puede sugerir para el futuro complementar el texto con algunos temas o capítulos que no fueron expresamente tocados por el Dr. Vélez, pero que podrían agregarse en futuras ediciones. Entre ellos serían de consideración los siguientes:

- Presentación de un modelo básico, que contemple procedimientos aplicables en la preparación y evaluación de proyectos agrícolas o agro-industriales específicos.
- Exposición sobre un plan de explotación o proyecto de inversiones de una unidad productora compuesta de diversas actividades, con el fin de lograr el mejor uso de los recursos crediticios, mediante la fijación de diversas alternativas de producción.
- Bases para un sistema de tasación o valoración de los bienes otorgados por los usuarios en garantía

de los préstamos, sean estos prendarios, hipotecarios o de otra índole.

- Posibilidad de incluirse en el texto, los formularios que se consideren apropiados para obtener la información generalmente requerida en la recepción de solicitudes y cualquier otra información básica para el trámite de operaciones bancarias. Asimismo, la presentación de modelos de los instrumentos o documentos de crédito más usuales para la formalización de los préstamos (pagarés-certificados de prenda-hipotecas, etc.) y los requisitos legales que los mismos demanden.

ALBERTO ARMIJO P.  
BANCO CENTRAL DE COSTA RICA  
SAN JOSE, COSTA RICA

NOYES, ROBERT. ed. Fuel cells for public utility and industrial power. Park Ridge, N. J., Noyes Data, 1977. 322 p. US\$ 42.

Este libro trata de las pilas de combustión, en las que la energía química de un combustible se convierte directamente en corriente eléctrica. Las plantas de energía basadas en pilas de combustión ofrecen una de las posibilidades más interesantes para la generación de energía en el futuro. La pila de combustión es potencialmente más eficiente que una planta de vapor recalentado. Como el combustible reacciona electroquímicamente y no por combustión, hay menos problemas de contaminación ambiental, termal, o por ruido. Las pilas pueden ser enfriadas por el aire y no necesitan estar adyacentes a un volumen de agua.

Las plantas eléctricas y los consumidores industriales requieren una corriente alterna, de alto voltaje, de

tres fases. En esta aplicación, las pilas de combustión deben competir con los generadores de turbinas. Mientras que el producto de las pilas es corriente directa de bajo voltaje, las pilas se pueden conectar en varias formas en serie o en paralelo para tener cualquier voltaje deseado, pero hay que proveer convertidores rotativos o inversores electrónicos delicados para convertirla en corriente alterna.

El trabajo inicial con pilas de combustión se hizo con ácido fosfórico, pero se están investigando también electrolitos alcalinos. La segunda generación de estas pilas probablemente operará con carbonatos fundidos. La tercera generación se espera que funcione con electrolitos sólidos de óxidos, que operarán a altas temperaturas. El combustible más usado es el de hidrógeno-oxígeno.

A la vanguardia del desarrollo de la tecnología de las pilas de combustión está la United Technologies Corporation (UTC), la que está completando un módulo de demostración de 4,8 MW.

El libro, basado en estudios contratados por el gobierno de los Estados Unidos, contiene considerable información técnica práctica y presentada en lenguaje claro, sobre la utilización de células de combustión en plantas eléctricas. Antes de entrar en los estudios de procesos, se presentan capítulos sobre los tipos de combustible. Entrando en la descripción de los procesos, se presentan los estudios hechos por la Westinghouse y la General Electric para plantas productoras de electricidad para las casas. Termina con dos capítulos; uno sobre comercialización que contiene un análisis de beneficios, (en 1985 se podrían ahorrar 275 mil barriles diarios de petróleo y mil millones de dólares en costos más bajos de electricidad), y otro que es una lista de unas 500 patentes de los Estados Unidos sobre pilas de combustión, materiales para esas pilas, y asuntos relacionados.

La lista anotada, que contiene un resumen de cada proceso, está organizada por compañías, y abarca desde 1970. La UTC tiene 91 patentes; la Westinghouse, 20. De interés es el hecho que las firmas automovilistas poseen también patentes sobre pilas de combustión; así, tenemos: General Motors (16), Ford (3), Volkswagen (1), Toyota (1).

INTERNATIONAL INSTITUTE FOR LAND RECLAMATION AND IMPROVEMENT. A Framework for land evaluation. Wageningen, The Netherlands IIRI Publications 22. 1977. 87 p.

El problema de clasificar las tierras por su capacidad de uso, actual o potencial, es uno de los principales escollos que debe superar el planificador en la América Latina. Esta publicación propone un sistema de clasificación que, entre otros, puede ayudarle en la resolución del problema.

La filosofía o los principios del sistema se discuten en el capítulo 1; es notoria la influencia del sentido utilitario que se le da al trabajo. Los ocho principios enunciados deberán considerarse en cualquier curso o texto sobre "Economía de la Tierra".

El capítulo 2 y el glosario definen conceptos básicos. Con ellos se provee el vocabulario internacional, que facilitará la transferencia de tecnología en el futuro, uno de los objetivos de esta publicación.

Es interesante el enfoque jerárquico que se propone para el sistema (capítulo 3). La creación de órdenes, clases, subclases y unidades facilita el trabajo y a la vez permite un ordenamiento más adecuado de los resultados de cualquier cartografía. La amplitud de los criterios de clasificación para cada nivel, representa un acierto en un trabajo que pretende proveer solo un marco de referencia.

Como complemento a los capítulos anteriores, los capítulos 4 y 5 tratan sobre el procedimiento de trabajo e incluyen ejemplos del empleo del sistema a diferentes grados de detalle.

La publicación, preparada bajo los auspicios de la FAO, incluye la experiencia de un gran número de expertos en evaluación de la tierra y representa un esfuerzo común para mantener uniformidad en este campo. El texto es útil para planificadores, científicos y estudiantes avanzados involucrados en el sector agrícola.

ALFREDO ALVARADO  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
SAN JOSE, COSTA RICA

# Using Styroblock containers to grow *Pinus caribaea* var. *hondurensis* Barr. & Golf. nursery seedlings<sup>\*1/</sup>\_\_\_\_\_

C. R. VENATOR,\*\* ALBERTO RODRIGUEZ\*\*

## COMPENDIO

*Se llevó a cabo una prueba para determinar la potencialidad del sistema "Styroblock" para producir plántulas de Pinus caribaea var. hondurensis en el vivero. En esta prueba no se encontró ninguna diferencia en el crecimiento de altura de las plántulas en las dos cavidades estudiadas. Sin embargo, había diferencias significativas en el diámetro del tallo de las plántulas y en el peso seco absoluto. En ambos casos las plántulas en cavidades de un volumen de 120 cc crecieron más que las plántulas propagadas en las cavidades de un volumen de 60 cc. Además se encontró que en una prueba de resistencia a la sequía, las plántulas propagadas en las cavidades de mayor volumen sobrevivieron mejor que las plántulas en cavidades más pequeñas. Basándose en las experiencias en Puerto Rico con este sistema, se cree que debido a las economías y la posibilidad de mecanizarse, la producción de plántulas en el vivero con el Sistema de Styroblock tendrá mucho potencial para los países tropicales.*

### Introduction

IN THE mid-1960's nurserymen in Europe and North America began to investigate using lightweight, multiple cavity flats to grow forest tree seedlings year around in controlled environment greenhouses. This method allows seedlings to be produced in one year by extending the nursery phase beyond the natural growing season, thus reducing the production costs of container grown seedling which are used: 1) to reforest harsh, dry sites where survival of bareroot seedlings is generally low, and 2) to reforest seriously disturbed and exposed sites such as abandoned strip mines.

In Puerto Rico we are currently testing one of the most popular multiple cavity flats, the BC/CFS Styroblock,<sup>\*</sup> a lightweight, expanded bead, polystyrene block

\* British Columbia/Canadian Forest Service. Mention of this and other commercial products in this paper does not imply endorsement by the U. S. Forest Service.

<sup>\*</sup> Received for publication October 20th, 1977.

<sup>1/</sup> In cooperation with the University of Puerto Rico.

\*\* Institute of Tropical Forestry, P. O. Box AQ, Río Piedras, Puerto Rico 00928.

with molded multiple cavities. These flats can be manufactured in a variety of cavity sizes with lengths and widths suited to the species of seedling to be planted in them. The individual cavities are tapered, inverted cones with several ridges running down the length of the cavity from the top to the bottom. Perhaps the most important innovation of this design is that it prevents roots from spiraling. Also the inner surface of each cavity is glazed, insuring the easy removal of the seedling.

An additional advantage of the Styroblock system is that it can be highly mechanized (1). At the lowest level of mechanization about 10,000 cavities can be filled and seeded per man day. A minimal capital investment can easily increase this to about 40,000 cavities per man day, and in a completely mechanized system as many as 300,000 cavities can be filled and seeded in a single day. The efficiency and economy of the mechanized system make the styroblock-system attractive for tropical countries whose current nursery production is labor intensive, since the money and labor economized in the nursery could be used to increase the total number of seedlings planted in the field.

This report examines the growth of *Pinus caribaea* var. *hondurensis* seedlings in Styroblock 4 and 8 containers, and considers the potential of this container for the tropics.

### Methods and Materials

Thirty Styroblock 4 flats (160 cavities each, with a top diameter of 3.05 cm, a depth of 12 cm, and a total volume of 60 cc), 30 Styroblock 8 flats (80 cavities each, with a 3.94 cm top diameter, a depth of 17 cm and a volume of 120 cc per cavity) were filled with a Jiffy 7 peatmoss mixture. Five seeds were sown in each cavity and then covered with about 1 cm of finely ground vermiculite. The individual Styroblocs were randomly placed under boxes covered with 30 per cent saran shade during germination. In addition to providing shade for the seedlings, the boxes prevented mice and birds from eating the seed. The shade reduced the evaporation of water from the vermiculite medium so that only once daily watering was necessary.

Ten days after germination had begun, excess germinates were transplanted into the cavities without a seedling to obtain 100 percent stocking. Late germinating seedlings were culled to eliminate multiple seedlings per cavity.

Three weeks after germination began, the shade boxes were removed and the Styroblock were re-randomized into one block to minimize edge effects. In the 8th week soil collected from beneath a pine stand was scattered over the Styroblocs to provide a source of mycorrhizae. This process was repeated 2 weeks later to insure inoculation. The seedlings were watered as necessary. During the 3rd and 6th months, 10 cc of Stern's Miracid, a water soluble fertilizer containing macro- and micro-nutrients, was applied to each cavity.

Seedling height measurements were made at 3, 6, and 8 months. Border seedlings were also measured to determine if they were influenced by exposure to sunlight. Growth differences measured are reported here.

Immediately after measuring height and diameter in the 8th month, 10 seedlings were randomly selected from the interior of each of the 60 Styroblocs and their shoot/root dry weight ratios were determined. Because the border row seedlings were smaller and many were culls, they were not used for shoot/root ratios or for field survival measurements.

After 8 months of nursery growth 16 plots of 20 seedlings from each cavity size were randomly located under a shelter house to test how long they could survive without watering. To reduce edge bias a row of Styroblock plots was placed around the test plots.

To determine the effect of cavity volume on survival and growth initiation after outplanting, 400 nine-month-old, randomly selected interior seedlings from each cavity size were planted in the field. These test seedlings were planted in 40 plots of 10 seedlings each from each cavity size. Height, root collar diameter, and shoot/root dry weight measurements were made shortly before the seedlings were planted in the field.

### Results and Discussion

The survival of the Styroblock 4 seedlings at the time of the last nursery height measurement was 87.9 percent while that of the seedlings grown in Styroblock 8 cavities was 93.2 percent. Statistical analysis of the survival data showed that these differences were significant ( $p < 0.05$ ).

An analysis of the survival pattern to determine why survival of the Styroblock 4 seedlings was less than of the Styroblock 8 seedlings revealed that 78 percent of the dead seedlings in the Styroblock 4 cavities were from the border row, but only 43 percent of the dead seedlings in the Styroblock 8 cavities were from the border row.

Increased heating of the root system probably caused the higher death rate in the Styroblock 4 border row, suggesting that the greater volume of the Styroblock 8 cavity provides more protection against heat induced desiccation and enhances survival. Incidental sunlight on the Styroblock 4 edge cavities results in a greater heat build-up and a subsequent water loss from the peatmoss medium. Thus, if the smaller volume cavities are used, the water regime during the nursery phase must be monitored more closely than if the larger volume cavities are used.

The mean height of approximately 4,800, 3-month-old Styroblock 4 seedlings was 6.3 cm and for about 2,400 Styroblock 8 seedlings 5.9 cm. The mean height at 6 months was 11.9 cm for the Styroblock 4 seedlings and 11.7 cm for the Styroblock 8 seedlings. After 8

Table 1 — Mean height (cm) and survival of *Pinus caribaea* var. *bondinensis* nursery seedlings grown in Styroblock 4 and Styroblock 8 containers. Values with the same letter are statistically different at  $p < 0.05$ .

Cavity type	Seedlings Measured	Survival (%)	Height Growth				
			3 months	6 months	8 months		
					All	Interior	Border
Styroblock 4 (60cc)	4,800	87.9 <sup>a/</sup>	6.3	11.9	19.9	23.6 <sup>b/</sup>	13.4 <sup>b,c/</sup>
Styroblock 8 (120cc)	2,400	93.2 <sup>a/</sup>	5.9	11.7	19.5	21.7	17.8 <sup>c/</sup>

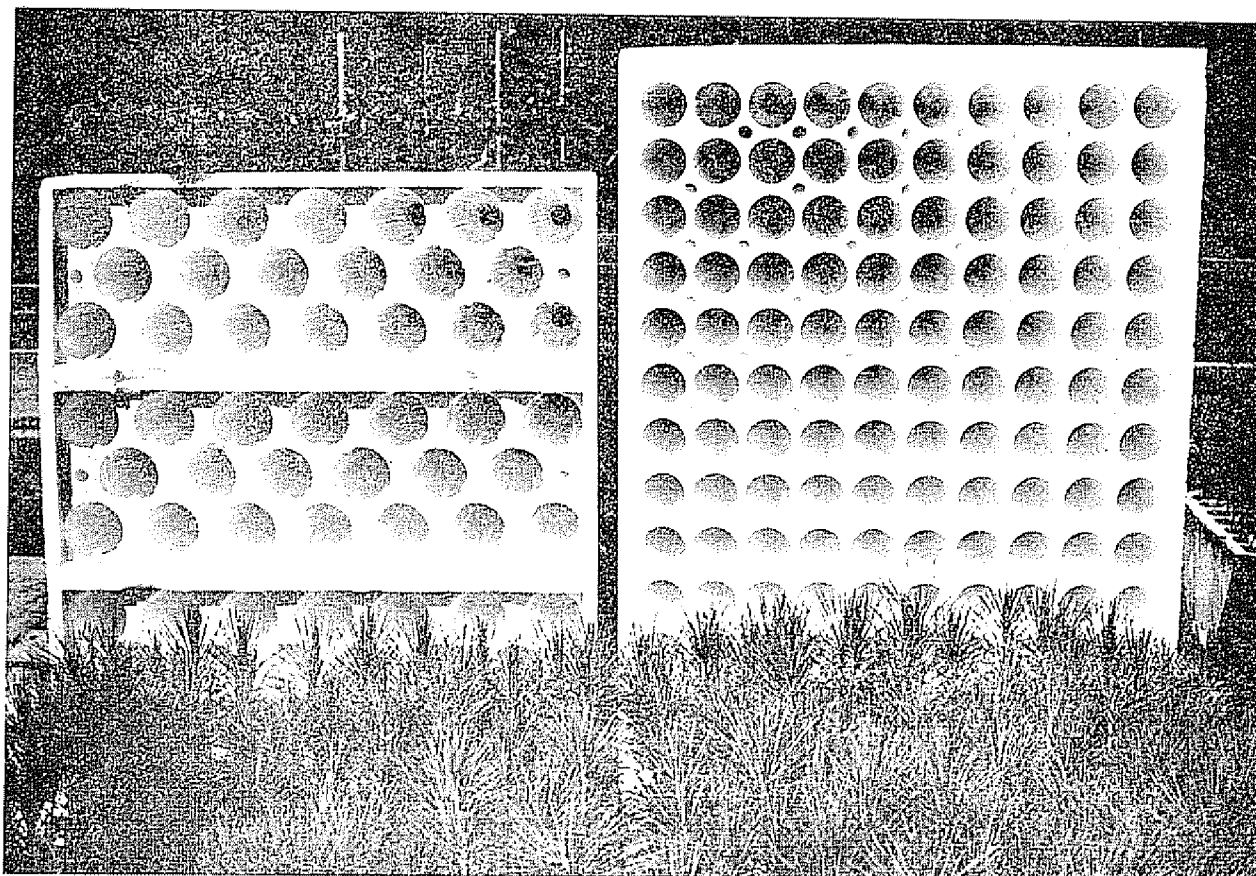


Fig. 1.—Top view of the Styroblock "8", on the left, and the Styroblock "4" container. The Styroblock "8" has 80 cavities and the Styroblock "4" has 160 cavities. Note the ribs on the cavity surface which prohibit root spindling.

months the mean height for the Styroblock 4 seedlings was 19.9 cm and 19.5 cm for the Styroblock 8 seedlings. Figure 1 illustrates the two different Styroblocs used in this test. The differences in seedling height between the 2 cavities for these comparable growth periods were not statistically significant (Table 1). After 8 months the border seedlings of both cavity types were significantly shorter ( $P < 0.05$ ) than the corresponding interior seedlings (Table 1). In addition, the border seedlings of the Styroblock 4 flats were significantly smaller ( $P < 0.01$ ) than those of the Styroblock 8 flats (Table 1).

Nine months after germination for 180 randomly selected seedlings from the interior of the Styroblock 4 flats (Table 2) the mean root collar diameter was 3.03 mm; the root collar diameter of 180 Styroblock 8 seedlings was 3.72 mm, a significant difference ( $P < 0.01$ ). This difference suggests that *P. caribaea* seedlings respond strongly to the different spacing of the Styroblock cavities and is in agreement with what Tanaka and Timmis (2) found in their investigations with Douglas-fir container density and seedling diameters.

Although the shoot/root dry weight ratios for 300, 8-month-old randomly selected seedlings from the interior of the larger cavity was not significantly different than that of the seedlings grown in small cavities (Table 3); the difference in the mean shoot and root dry weights of the seedlings grown in the two different cavity sizes illustrates that spacing and cavity volume influence both shoot and root growth. Similar results were found with Douglas-fir (2). Thus, it appears that as the container cavity density per unit area increases, absolute shoot and root biomass decreases.

The shoot/root dry weight data obtained in this study cannot be compared with data from other tropical countries since there is no published information on shoot/root ratios for *P. caribaea*. Therefore, it is not possible to estimate what a proper or balanced shoot/root ratio should be for this species at the time of out-planting. Likewise it is not possible to estimate the optimum absolute dry weight for *P. caribaea* seedlings.

The results of the drought survival test revealed that 8 month-old and 20 cm tall seedlings in the smaller cavities began to wilt 8 to 9 days after watering was discontinued, but seedlings grown in the larger cavities

did not begin to wilt until about 11 to 12 days after watering was discontinued. About 50 percent of the Styroblock 4 seedlings were dead 12 to 13 days after water was withheld, but half of the Styroblock 8 seedlings did not die until about 16 to 17 days after watering was discontinued. About 16 to 17 days after the test began all the seedlings in the smaller cavities were dead, and at the end of 20 to 22 days all of the Styroblock 8 seedlings were dead.

The more rapid desiccation of seedlings grown in the Styroblock 4 cavities indicates that a larger cavity should be used where rainfall is light. The maximum time that seedlings would be expected to survive in the field without rainfall would appear to be about 6 to 7 days for those grown in the smaller cavities and 10 to 11 days for those grown in the larger cavities. Of course these data reflect a laboratory experiment

Table 2.—Mean root collar diameter and height of randomly selected *P. caribaea* var. *bondurensis* seedlings from the interior section of Styroblock 4 and Styroblock 8 flats. Values with the same letter are statistically different at  $P < 0.01$ .

Cavity type	Seedlings Measured	Diameter (mm)	Height (cm)	
			x	S D
Styroblock 4 (60 cc)	180	3.03 a	26.9 ±	3.56
Styroblock 8 (120 cc)	180	3.72 a	25.9 ±	4.32

Table 3.—Mean shoot/root dry weight ratios of *P. caribaea* var. *bondurensis* seedlings grown in Styroblock 4 and Styroblock 8 containers. Values with the same letter are statistically significant at  $P < 0.01$ .

Cavity type	Seedlings Measured	Shoot (gm)	Root (gm)	Ratio
Styroblock 4 (60 cc)	300	1.774 a	0.529 b	3.35
Styroblock 8 (120 cc)	300	2.957 a	0.878 b	3.37
% increase	—	67%	66%	nil

where the seedlings were shielded from direct sunlight. On the other hand, these seedlings did not benefit from dewfall as they would if planted in the field. Also residual moisture from the surrounding soil will diffuse into the peatmoss should the styroblock become drier than the soil. Thus, until more results are available from plantations from a wide variety of terrains and climates, precise survival predictions cannot be given.

In the field survival test after 3 months, 97.4 percent of the Styroblock 4 seedlings were alive and 98.2 percent of the Styroblock 8 seedlings were alive. These differences were not statistically significant.

Although the drought survival test in this study suggested that field survival of large seedlings grown in smaller volume 60 cc containers may be low, the results of the field trial did not show any statistical difference in survival rate.

Survival rate following outplanting, however, does not appear to be the best criterion for determining the best plantable seedling. Although shoot/rot ratios, seedling height, and root collar diameter are parameters believed to be critical for survival, we feel that rapidity of growth initiation, once the seedlings are outplanted, should be the most important parameter for defining the best plantable seedling.

The results of this trial plus several others during the past two years indicate that the Styroblock production system holds a great potential for tropical and subtropical countries actively planting *P. caribaea* var. *bondurensis*. Our experience with this system in Puerto Rico has shown that survival of seedlings produced in either Styroblock 4 or 8 cavities is equivalent to that of seedlings planted with a ball of soil. We have not tested the survival of seedlings grown in the Styroblock on sites receiving less than 1400 mm of rainfall per year because in Puerto Rico pine is rarely planted on sites receiving less rainfall.

#### Literature cited

1. SJOBERG, N.E. The Styroblock Container System. In Proceedings of the North American Containerized Forest Tree Seedling Symposium, Denver, Colorado, August 26-29, 1974. Edited by R.W. Tinus, W.I. Stein and W.E. Balmer. Great Plains Agricultural Council Publication N° 68, 1974, pp 217-228.
2. TANAKA, YASUOMI, and TIMMIS, ROGER. Effects of container density on growth and cold hardiness of Douglasfir seedlings. In Proceedings of the North American Containerized Forest Tree Seedlings Symposium, Denver, Colorado, August 26-29, 1974, edited by R.W. Tinus, W.I. Stein and W.E. Balmer, Great Plains Agriculture Council Publications N. 68, 1974, pp 181-186.

# Características pedológicas y utilización de algunos suelos halomórficos de los Bajos Submeridionales, Argentina\*—

HECTOR J M MORRAS\*\*, SILVIA PERMAN\*\*\*

## ABSTRACT

*A sequence of four soil profiles from the Bajos Submeridionales, Argentina, permitted to distinguish different degrees of pedologic evolution and salinity in relation to the topographic situation of each profile. The analytical data allow us to classify the profiles situated in the "transitional zone" as alkali soils and those situated in the "low zone" as saline-alkali soils. The agricultural capability of these soils is discussed on the basis of results obtained during the study.*

## Introducción

EL AREA denominada "Bajos Submeridionales" constituye una extensa depresión que ocupa el centro-norte de la Provincia de Santa Fe, Argentina, y en la que la interrelación de factores geomórficos y climáticos se conjugan para generar un ambiente de características particulares. Esta región forma parte de la gran llanura sedimentaria chaco-pampeana, constituyendo una subunidad ecológica dentro de la gran unidad natural del Chaco Argentino (8).

Si bien los Bajos Submeridionales se hallan próximos a las áreas de mayor concentración poblacional y desarrollo económico del país, las características propias de la región hacen que la explotación agropecuaria y la densidad de población sean mínimas. De allí el interés en el conocimiento de sus recursos naturales y de sus posibilidades de explotación.

El conocimiento de los suelos de la región es hasta el momento bastante limitado y la cartografía existente incluye todos los suelos del área en una única gran unidad. Así por ejemplo Papadakis *et al.* (11) dentro del área que denominan "región subtropical con suelos medianamente lixiviados y asociados" agrupan los suelos de los Bajos Submeridionales dentro de una subunidad que definen como "suelos solonéticos del norte de Santa Fe". Según el mapa mundial de suelos de la FAO (3) los suelos de esta región son considerados como "solonetz mólicos en asociación con gleysoles mólicos y planosoles mólicos", en tanto que en el Mapa Esquemático de Suelos de la Provincia de Santa Fe (7) se los agrupa como suelos halomórficos "desarrollados sobre materiales eólico-aluviales en relieve cóncavo".

Por otra parte, si bien existen algunos trabajos sobre las características químicas y físico-químicas así como de las limitaciones agropecuarias de algunos suelos del área (1, 2, 14) no se dispone hasta el momento de mayor información sobre la génesis, repartición y clasificación de suelos dentro de la unidad. En este sentido, una primera tentativa de diferenciación y agru-

\* Recibido para la publicación el 23 de junio de 1977.

\*\* Departamento de Hidrología, Universidad Nacional del Litoral, Argentina.

\*\*\* Dirección de Suelos y Aguas, Ministerio de Agricultura y Ganadería, Santa Fe, Argentina.



pamiento fue realizada por Cerana (1) en base a algunos criterios morfológicos y granulométricos.

En consecuencia, en esta etapa de evaluación de los suelos de los Bajos Submeridionales nuestra finalidad consistió en reconocer y diferenciar algunos de los suelos existentes en función de algunos criterios geomorfológicos, intentando por otra parte una evaluación de sus posibilidades de utilización en base a algunas características pedológicas y particularmente en función de las características de halomorfía (10).

#### Descripción del área de estudio.

##### Metodología empleada

Fisiográficamente los Bajos Submeridionales se presentan como una extensa depresión de dirección nortesur, encerrada entre dos lomos morfológicos o dorsos orientados en el mismo sentido y situado al oeste y este de la misma (lomo occidental y lomo oriental respectivamente), (Fig. 1). El origen de estos lomos se hallaría relacionando a la fracturación y sobre elevación del basamento cristalino profundo, reflejándose estas dislocaciones en las formaciones sedimentarias que lo recubren (4).

Según Gollán y Láchaga (4) los Bajos Submeridionales ocuparían gran parte del centro de la Provincia de Santa Fe correspondiendo en todo caso la zona que nos interesa en este trabajo a la que los autores mencionados llaman "fracción norte de los bajos de dirección submeridional". En esta última unidad fisiográfica, situada aproximadamente entre 28° y 30° de latitud sur y entre 60°30' y 61°30' de longitud oeste, diversas áreas han sido distinguidas de acuerdo a las características morfogenéticas y al comportamiento de los escurrideros (12, 13). Los suelos analizados en este trabajo corresponden a una de estas áreas morfológicas diferenciadas denominada "llanura relativamente nivelada" (13).

La "llanura relativamente nivelada" constituye dentro de los Bajos Submeridionales una planicie de suave pendiente hacia el este que nace en el lomo occidental y que se corta abruptamente en el sistema de los arroyos Golondrinas-Calchaquí que señala el límite del dorso oriental; la pendiente, muy reducida, es del orden de los 14 cm/km. (6). En esta área se pueden reconocer dos subunidades: la zona de transición y la zona baja.

La zona de transición representa el borde del lomo morfológico occidental que desciende hacia la zona deprimida de los Bajos Submeridionales. Desde el punto de vista fitogeográfico corresponde al Chaco Xerofítico (6) caracterizado por una vegetación arbórea que en esta zona se presenta agrupada entre claros de vegetación herbácea. Los escurrimientos corresponden a las características del relieve y son de tipo laminar y difuso orientados hacia la zona baja. Los perfiles de suelo I y II aquí descriptos se ubican en esta zona de transición.

En la zona baja (perfiles III y IV) el paisaje, de marcada monotonía topográfica y de vegetación, se presenta como una sabana de pastos duros entre los cuales predominan los espartillares (*Spartina argentinensis*) y los

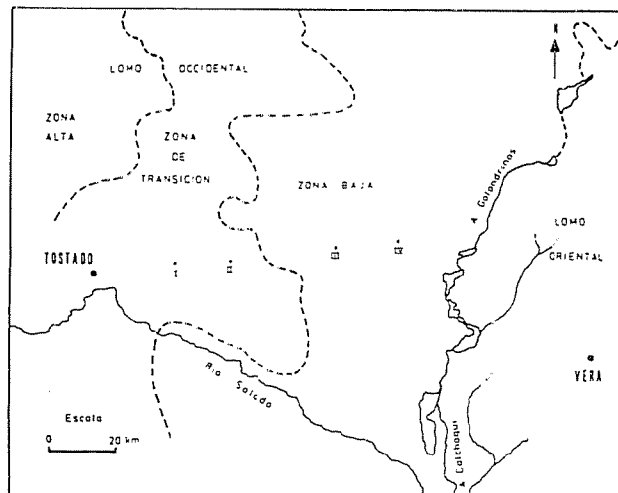


Fig. 1.—Mapa del sector de los Bajos Submeridionales considerado, y ubicación de los perfiles de suelo estudiados.

pastizales de pasto amargo (*Elionurus* sp.). En las zonas más bajas se destaca la presencia de hormigueros ("tacurues") de una cierta altura que conforman un microrrelieve particular. Además del agua de las precipitaciones, a esta zona llegan los aportes hídricos superficiales provenientes de la zona de transición; por otra parte una napa freática fuertemente salina y próxima a la superficie se extiende por toda la región; el carácter químico de estas aguas de cloro-sulfato sódicas en su mayor parte con concentraciones salinas elevadas y que aumentan con la profundidad (5). Dentro de la planaridad dominante de esta región (perfil III) se observan algunas circunstanciales áreas positivas caracterizadas por una vegetación arbórea abierta; el perfil IV se sitúa en una microdepresión en la parte inferior de una de estas áreas positivas.

Desde el punto de vista climático las precipitaciones aumentan de oeste a este, pudiéndose considerar que la parte media de los Bajos Submeridionales se halla atravesada por la isohieta de 900 mm. Si bien los valores de las precipitaciones y evapotranspiración potencial anual se hallan globalmente en equilibrio, durante los meses estivales la pluviometría presenta déficits relativos (13). Debe agregarse por otro lado como característica propia de la región la irregularidad climática y la alternancia periódica de sequías e inundaciones. Las temperaturas medias de la región varían aproximadamente entre 14° y 24°C para el mes más frío y más cálido respectivamente.

En el presente trabajo se discutirán las características de los cuatro perfiles de suelo mencionados que conforman una transecta desde la zona de transición hacia la zona baja. Los análisis realizados en estas muestras incluyen:

- granulometría mediante densimetría para las fracciones finas y tamizado para las arenas;
- pH en relación suelo: agua 1:2, 5;
- materia orgánica, método de Walkley y Black por combustión húmeda;

- complejo de intercambio: valor T determinado con acetato de sodio a pH 8,2; cationes de cambio mediante lavado previo de sales y luego saturación con acetato de amonio;
- salinidad: resistencia eléctrica de la pasta de suelo en relación suelo: agua 1:4; conductividad y determinación de cationes en el extracto de pasta saturada

### Resultados

Las características morfológicas de los cuatro perfiles de suelo analizados varían considerablemente entre sí, evidenciando la acción de procesos pedogenéticos particulares en cada uno de los sitios de estudio

Una breve descripción de estas características se da a continuación.

*Perfil I:* A<sub>1</sub>; 0-18 cm; color Munsell en húmedo 10 YR 2/2; estructura moderada en bloques angulares y subangulares, subestructura granular débil consistencia en húmedo friable a firme.

B<sub>1</sub>; 18-35 cm.; color en húmedo 10 YR 2/3; prismas grandes moderados; consistencia friable a firme en húmedo

B<sub>2t</sub>; 35-90 cm.; color en húmedo 10 YR 3/3-3/4; prismas grandes de desarrollo moderado a fuerte; consistencia firme en húmedo;

B<sub>3</sub>; 90-110 cm.; color en húmedo 10 YR 4/4; estructura moderada en bloques angulares y subangulares medianos; consistencia firme;

*Perfil II:* A<sub>1</sub>; 0-3 cm; color Munsell 10 YR 6/1; estructura granular; textura limosa

A<sub>2</sub>; 3-16 cm.; color 10 YR 6/2; estructura fuerte en bloques subangulares; textura limosa; consistencia friable en húmedo.

B<sub>2t</sub>; 16-29 cm.; color 10 YR 2/3; estructura en prismas medianos fuertes; consistencia friable a firme.

B<sub>22t</sub>; 29-60 cm.; color 10 YR 3/3; prismas medianos fuertes; consistencia firme; cutanes abundantes sobre las unidades estructurales.

B<sub>23t</sub>; 60-90 cm.; color 10 YR 4/4; estructura moderada en prismas medianos; consistencia friable a firme; nódulos de carbonato.

B<sub>3ca</sub>; 90-110 cm.; color 7,5 YR 4/4; estructura en bloques angulares moderados; consistencia friable; nódulos de carbonato, moderados.

*Perfil III:* A<sub>1</sub>; 0-12 cm.; color en húmedo 10 YR 2/1; estructura moderada en bloques subangulares medianos; consistencia friable en húmedo.

B<sub>2</sub>; 12-33 cm.; color 10 YR 2/1; estructura en bloques angulares medianos, moderada; consistencia friable.

B<sub>22t</sub>; 33-59 cm.; color 7,5 YR 3/4; estructura moderada en bloques angulares medianos y prismas medianos débiles; consistencia friable; nódulos de carbonato y nodulos ferruginosos.

B<sub>23</sub>; 59-80 cm.; color en húmedo 7,5 YR 4/3; estructura en bloques angulares a subangulares, media-

nos, moderados; consistencia friable; nódulos de carbonato y ferruginosos

B<sub>3g</sub>; 80-125 cm.; color 7,5 YR 4/4; estructura en bloques angulares a subangulares, grandes, moderados; consistencia friable; horizonte afectado por la napa freática.

*Perfil IV:* A<sub>1</sub>; 0-11 cm.; color en húmedo 10 YR 2/1; estructura en bloques angulares medianos, moderados; consistencia friable

A<sub>2</sub>; 11-14 cm.; color en húmedo 10 YR 3/2; estructura en bloques subangulares, finos, débiles; consistencia friable.

B<sub>2t</sub>; 14-25 cm.; color 10 YR 2/2; estructura en prismas finos moderados a débiles que se rompen en bloques angulares finos; cutanes abundantes.

B<sub>22t</sub>; 25-40 cm.; color 10 YR 2/3; estructura moderada en bloques angulares medianos; barnices y moteados moderados.

B<sub>23</sub>; 40-65 cm.; color 10 YR 3/4; estructura en bloques angulares, medianos, moderados a débiles; cutanes y moteados; presencia de la napa freática en la parte inferior del horizonte.

Por otra parte, el análisis comparativo de los resultados analíticos obtenidos para las distintas muestras (Cuadros 1 y 2) permite establecer diversas conclusiones

En primer lugar, los datos granulométricos indican que en todos los perfiles los horizontes A se caracterizan por una predominancia de la fracción limo y en particular por un aumento notable del limo grueso; la fracción arena, presente en débil proporción, aumenta asimismo en los horizontes A. Los horizontes B por su parte muestran un neto incremento de la fracción arcilla, lo que se hace particularmente evidente en el suelo solodizado del sector inferior de la zona de transición (perfil II).

La observación de los resultados relativos a la capacidad de intercambio permite asimismo establecer una clara diferenciación entre los valores correspondientes a los horizontes A y B de los distintos perfiles. Por otra parte es de señalar que los mínimos valores de capacidad de intercambio catiónico se encuentran en los horizontes A<sub>2</sub> de los suelos solodizados (perfil II) y planosólicos (perfil IV). La composición del complejo de cambio de todos los perfiles se halla caracterizada por los elevados valores de saturación en sodio; puede establecerse sin embargo que el porcentaje de saturación en sodio aumenta en los suelos de la zona de transición (Perfiles I y II) con valores que oscilan entre 30 y 60 por ciento de T, en tanto que en los perfiles III y IV el sodio constituye entre el 15 y 40 por ciento de la capacidad total de intercambio catiónico. Es de señalar que los porcentajes mínimos de sodio de intercambio se encuentran en los horizontes A de cada perfil.

Correlativamente a estas características del complejo de cambio, puede establecerse que el pH acusa valores superiores en la zona de transición (pH > 9) en tanto que en los suelos de la zona baja los valores se sitúan alrededor de pH 8. A excepción del perfil IV, en los otros perfiles el pH es levemente inferior en los horizontes A.

Cuadro 1 —Análisis químicos y granulométricos de los perfiles descriptos

Muestra	Granulometría %						Mat org %	(H <sub>2</sub> O) pH	Complejo de intercambio meq /100 gr						% Na <sup>+</sup>
	< 2 μ	2-20 μ	2-50 μ	50-100 μ	100-250 μ	250-500 μ			Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	∑ suma	∑ anal.	
I-A <sub>1</sub>	20,5	34,5	7,4	5,55	4,52	0,57	1,77	8,1	6,4	2,3	4,9	2,2	16,8	16	29,1
I-B <sub>1</sub>	26,5	37	64,5	5,83	1,18	0,17	0,71	9,0	7,6	2,1	9,9	2,5	23,1	20,8	42,5
I-B <sub>2</sub>	31	45	60,5	5,75	2,10	0,15	0,52	9,2	4,3	2,4	12,3	2,4	21,4	20,4	57,4
I-B <sub>3</sub>	30	31	64,5	5,08	1,28	0,09	0,32	8,8	8,4	3,4	8,2	2,3	22,3	22,2	36,7
II-A <sub>1</sub>	8,2	—	—	—	—	—	3,20	7,8	4,4	1,5	3,4	1,6	11,4	12,2	29,9
II-A <sub>2</sub>	13,5	37,5	73,5	8	2,31	0,28	1,86	8,2	3,2	1,3	3	1,5	9,5	8,4	31,7
II-B <sub>21</sub>	30,5	43,5	62,5	4,69	1,62	0,20	0,92	9,3	3,4	2,4	13	3,3	19,1	19,8	52,3
II-B <sub>22</sub>	41	34	53,5	3,63	1,05	0,05	0,56	9,1	3,4	2,8	10	3,3	19,5	22,8	51,2
II-B <sub>23</sub>	36	31,5	57,5	3,28	1,96	0,76	0,35	9,0	3,3	3,3	10,1	3,4	20,1	23,6	50,1
II-B <sub>3</sub>	35,5	34,5	59,5	3,24	1,27	0,05	0,33	9,1	5,2	3,6	7	2,1	17,9	23,5	40,7
III-A <sub>1</sub>	17,5	37	75,5	4,2	1,04	0,13	2,92	7,5	7,2	2,8	2,5	1,2	15,7	13,6	15,8
III-B <sub>21</sub>	31,5	48	64	1,85	1,79	0,57	1,19	8,4	7,8	5,1	8,2	2,2	23,3	22	35,1
III-B <sub>22</sub>	30	38	67	3,29	0,67	0,08	0,71	8	8,2	3,7	8,8	2	23,7	20,8	37
III-B <sub>23</sub>	37,5	50,5	58,5	2,31	0,72	0,08	0,48	8	6	4,2	9	2	21,9	20,2	40,9
III-B <sub>3</sub>	30	41	67	1,53	0,75	0,12	0,23	7,8	8,4	4,9	8,7	2,1	25,6	23,4	33,9
IV-A <sub>1</sub>	19	31	74	4,59	1,63	0,29	2,96	8,1	11,2	2,4	3,8	1	19,9	18,5	19,1
IV-A <sub>2</sub>	21	26	71	5,06	1,54	0,21	1,28	7,4	6,6	2,3	3,5	0,9	14,9	14,2	23,8
IV-B <sub>21</sub>	27,5	27	66,5	3,81	1,17	0,14	1,15	7,6	10,4	3,3	7	1,9	24,6	23,4	28,4
IV-B <sub>22</sub>	35,5	28,5	58	4,25	1,35	0,12	0,91	8,2	9	3,5	7,4	1,2	21,1	23,6	34,9
IV-B <sub>23</sub>	31	29	64	3,72	0,73	0,04	0,29	8	9,3	2,5	8,4	1,5	21,7	21,1	38,6

El análisis de la salinidad según los resultados de la determinación de la resistencia eléctrica, de la conductividad del extracto de la pasta de saturación y de la estimación del porcentaje de sales, permite establecer el incremento de éstas en los suelos de la zona baja. Otro aspecto puesto de relieve por estos análisis es la clara distinción que se establece en el grado de salinidad entre los horizontes A y B de todos los perfiles, obteniéndose en los horizontes B valores superiores al doble de aquellos obtenidos en los horizontes A.

El análisis discriminado de la salinidad en aquellos suelos que presentaban una conductividad del extracto superior a 4 mmhos (suelos de la zona baja), muestra una neta predominancia del sodio dentro de los cati-

nes el que supera el 80 por ciento del total de los mismos; el calcio, magnesio y potasio conforman en orden decreciente el resto del conjunto catiónico. Por su parte los aniones están representados principalmente por cloruros y sulfatos, observándose un incremento de bicarbonatos en el perfil IV y trazas de carbonatos en el perfil III.

De acuerdo a estas características y en base a los criterios generalmente utilizados para la clasificación de suelos halomórficos (15) (conductividad eléctrica, porcentaje de saturación en sodio y pH) puede establecerse en consecuencia que la zona de transición está caracterizada por suelos alcalinos no salinos y la zona baja por suelos salino-alcalinos.

Cuadro 2 —Características salinas de los suelos estudiados

Muestra	Resist. Ohms	Conduct. mmho/cm	Sales gr %	Cationes meq /l.				Aniones meq /l.			
				Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>--</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>--</sup>	CO <sub>3</sub> H <sup>-</sup>
I-A <sub>1</sub>	1431	—	0,082	—	—	—	—	—	—	—	—
I-B <sub>1</sub>	1098	—	0,094	—	—	—	—	—	—	—	—
I-B <sub>2</sub>	715	1,4	0,202	—	—	—	—	—	—	—	—
I-B <sub>3</sub>	906	1,3	0,124	—	—	—	—	—	—	—	—
II-A <sub>1</sub>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
II-A <sub>2</sub>	1584	—	0,092	—	—	—	—	—	—	—	—
II-B <sub>21</sub>	415	2,8	0,256	—	—	—	—	—	—	—	—
II-B <sub>22</sub>	414	3,2	0,266	—	—	—	—	—	—	—	—
II-B <sub>23</sub>	392	3,1	0,266	—	—	—	—	—	—	—	—
II-B <sub>3</sub>	274	1,7	0,246	—	—	—	—	—	—	—	—
III-A <sub>1</sub>	1765	—	0,073	—	—	—	—	—	—	—	—
III-B <sub>21</sub>	269	1,9	0,219	—	—	—	—	—	—	—	—
III-B <sub>22</sub>	280	6,5	0,360	5,3	2,3	58	1,3	24,6	32	0,36	1,6
III-B <sub>23</sub>	292	5,6	0,372	5,3	1,9	51	1,3	29,5	19,4		3,2
III-B <sub>3</sub>	511	5,	0,396	5	4,2	52	1,2	27,2	28,2		1,6
IV-A <sub>1</sub>	848	2,5	0,168	—	—	—	—	—	—	—	—
IV-A <sub>2</sub>	647	3,6	0,117	—	—	—	—	—	—	—	—
IV-B <sub>21</sub>	346	4,6	0,341	4,3	2,3	50	2,1	10,8	27		14,4
IV-B <sub>22</sub>	328	4,1	0,204	4,3	0,8	39	1,3	13,9	26		5,1
IV-B <sub>23</sub>	249	7,7	0,370	6,6	1,4	57		32	20,6		10,3

(—) Corresponde a "no determinado".

*Discusión y conclusiones*

Dentro del sector considerado de los Bajos Submediterráneos los resultados obtenidos hasta el momento permiten distinguir diversos suelos cuyas características pedológicas se hallarían estrechamente relacionadas a la situación topográfica de los mismos.

El perfil I situado en la parte superior de la zona de transición se caracteriza por un epipedón mollico bien desarrollado así como por horizontes fuertemente saturados en sodio; de acuerdo al sistema de la Soil Taxonomy (16) este perfil es clasificado como Typic Natrustoll.

El perfil II localizado en el sector inferior de la zona de transición, presenta las características propias de un solonetz solodizado con horizonte A netamente empobrecido en elementos coloidales y horizonte B de estructura columnar degradada y fuertemente saturado en sodio. La estructura y granulometría del horizonte A lo hacen altamente sensible a los procesos de erosión, en tanto que el porcentaje de sales de los horizontes B ya alcanza valores que podrían resultar perjudiciales para el desarrollo de plantas sensibles. Dado que el régimen de humedad del perfil no está bien definido, este suelo es clasificado tentativamente como Aquic Natrustalf.

El perfil III correspondería a los suelos característicos de las grandes planicies de los Bajos Submeridionales (1). Este suelo presenta un horizonte A relativamente delgado, humífero y bien estructurado que pasa abruptamente a horizontes B arcillosos fuertemente saturados con sodio y con un tenor considerable de sales. Si bien el porcentaje de sales permite considerar este suelo como salino-alkalino, es de señalar la diferenciación que a este respecto se establece entre el horizonte A y los horizontes subyacentes. Estas sales influyen por otro lado sobre la floculación de los coloides contrarrestando el efecto dispesantes del sodio de cambio e influyendo sobre el pH que es inferior a 8.5. De acuerdo a la Soil Taxonomy, este suelo es clasificado como Typic Natrustoll.

Finalmente el perfil IV presenta carácter planosólico en superficie, salinización importante en todo el perfil, presentándose además la napa freática a poca profundidad, todo lo cual corresponde con la situación de microdepresión en que se halla el perfil. Según la Soil Taxonomy este perfil se clasificará como Natraboll.

De esta manera los perfiles estudiados en este sector de los Bajos Submeridionales permiten establecer la existencia de diversas fases de evolución pedológica en relación con unidades diferenciadas del paisaje. En primer lugar es posible establecer un diferente grado de halomorfía entre los suelos de la zona de transición y aquellos de la zona baja; por otro lado al interior de cada una de estas zonas se observan diferentes grados de evolución en función de la situación del perfil. Si bien el estudio de los mecanismos pedogenéticos es motivo de otros trabajos en curso, se considera que las diferencias de comportamiento hídrico superficial y subsuperficial en cada uno de los puntos de estudio en relación con las características topográficas, serían el factor preponderante en la individualización genética de los distintos suelos observados.

Por otra parte, además de evidenciar algunas de las características pedológicas de la región estudiada, estos resultados permiten reiterar y precisar para esta área algunos de los conceptos expuestos por otros autores (1, 2) relativos a las limitaciones agropecuarias de los suelos de los Bajos Submeridionales.

En condiciones naturales los suelos salino-alkalinos de la zona baja se caracterizan por un horizonte A de estructura granular, de baja proporción de arcilla y de porcentajes comparativamente reducidos de salinidad y saturación en sodio en relación con los horizontes B. En consecuencia estos suelos ofrecen para el desarrollo vegetal dos situaciones diferenciadas en el mismo perfil, pudiéndose considerar que un cierto equilibrio suelo-vegetación se halla presente y en el cual parecería determinante la discontinuidad granulométrica entre los horizontes A y B. Si la misma es rota por la actividad agrícola produciendo la homogeneización de horizontes y estableciendo una continuidad capilar, las sales constantemente provistas por la napa salina llegarían a la superficie eliminando la situación propicia ofrecida por el horizonte A y restringiendo las posibilidades de desarrollo de las plantas sensibles. La necesidad de un manejo adecuado y adaptado a la situación de estos suelos es así evidente.

Por otra parte la recuperación de estos suelos salinos plantea dificultades de enorme envergadura dado la proximidad y salinización de la napa freática, lo que sumado a las condiciones de relieve e hidrológicas particulares del área requerirían la construcción de redes de drenaje sumamente densas tal como ha sido señalado por Cerana (2); el costo y dificultades de éstas tareas parecerían actualmente excesivos en relación con las posibilidades de respuesta económica del área.

Si bien en la zona de transición el menor grado de salinidad no constituiría un factor limitante en la explotación de estos suelos, deberían tenerse en cuenta otras características restrictivas del área; esto sería particularmente necesario en el sector medio e inferior de la zona de transición donde los procesos de erosión hídrica y cólica encontrarían condiciones propicias para manifestarse; por otra parte la deforestación aquí practicada con vistas a la explotación agrícola podría contribuir a acentuar los riesgos señalados.

Debido a las diversas limitaciones indicadas, se considera que la explotación del sector estudiado requiere prácticas de manejo adecuadas a la singularidad del sistema. La explotación ganadera mejorada mediante la utilización de técnicas y especies vegetales adecuadas se considera la forma más racional de utilización de los suelos del área.

#### *Agradecimientos*

El presente trabajo ha sido realizado en parte gracias a un subsidio otorgado por el Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas de la Provincia de Santa Fe. Los autores desean expresar asimismo su agradecimiento a la Dirección de Suelos y Aguas del Ministerio de Agricultura de la provincia de Santa Fe y al Departamento de Hidrología de la Universidad Nacional del Litoral que han colaborado y permitido llevar a cabo diversas etapas de esta investigación.

#### *Literatura citada*

- 1 CERANA, L. Suelos de la fracción norte de los Bajos Submeridionales de la Provincia de Santa Fe IDIA, supl. N° 1, pp. 180-183, 1960.
- 2 ————. Los Bajos Submeridionales: ¿Es factible el plan director? El Litoral (Santa Fe, Argentina), julio 1976.
- 3 F.A.O. - UNESCO. Soil Map of the World. Vol. IV, South America 1971.
- 4 GOLLAN J y LACHAGA, D. Aguas de la provincia de Santa Fe. Primera contribución a su estudio. Santa Fe (Argentina), Instituto de Experimentación, Investigación y Fomento Agrícola y Ganadero, Publicación Técnica N° 12 384 p. 1939.
- 5 LACHAGA, D. Fisiografía del Departamento 9 de Julio Dirección de Química Agrícola y Edafología, Santa Fe. (Informe dact., sin fecha).
- 6 MANZI, R. Unidades ecológicas de la llanura santafesina GAEA, Anales de la Sociedad Argentina de Estudios Geográficos, XV: 200-227. 1972.

7. Mapa Esquemático de Suelos de Santa Fe Ministerio de Agricultura y Ganadería, Santa Fe (Argentina) 50 p., 1 mapa, 1974.
8. MORELLO, J. Las grandes unidades de vegetación y ambiente del Chaco Argentino. Primera Parte INTA, Serie Fitogeográfica N° 10 125 p 1968
9. ———, y ADAMOLI, J. Las grandes unidades de vegetación y ambiente del Chaco Argentino. Segunda Parte INTA, Serie Fitogeográfica N° 13 130 p 1974.
10. MORRAS, H. y PERMAN, S. Características genéticas, limitantes y potenciales de las principales unidades edáficas de los Bajos Submeridionales Consejo Provincial de Desarrollo, Santa Fe 24 p 1976
11. PAPADAKIS, J., CALCAGNO, J. y EICHEVEHERE, P. Regiones de suelos de la Republica Argentina. Mapa Esquemático. Instituto de Suelos y Agrotecnia, Buenos Aires 1 mapa 1960
12. POPOLIZIO, E. Manejo integrado de los recursos hídricos de los Bajos Submeridionales Programa Para el Estudio Integral de los Bajos Submeridionales (Centro de Geociencias Aplicadas - Universidad Nacional del Nordeste) Parte II, 11(3), 19 p 1975.
13. PROGRAMA 08. Informe de Proyectos Departamento de Hidrología, Univ Nac del Litoral 102 p 1975
14. VERGARA, E. Informe relacionado con el campo fiscal "La Cigüeña" Dirección de Química Agrícola y Edafología, Santa Fe (Informe dactilografiado) 1952
15. U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Handbook N° 60 1954
16. ———. Soil Taxonomy. A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys Handbook N° 436 1975

## Reseña de Libros

JEFFREY, CHARLES. Biological nomenclature 2nd ed. London, Edward Arnold for The Systematic Association, 1977. 72 p £ 1,95 net

La primera edición de este libro contribuyó a destruir el mito de que la nomenclatura biológica, con todas sus intrincaciones, era del dominio privado de unos pocos especialistas iluminados. Mediante su enfoque directo y su estilo lúcido, el autor presentó las complejidades legalísticas de los varios códigos de nomenclatura en una manera tal que los hizo fácilmente comprensibles y aplicables por biólogos de todos los niveles de experiencia, desde el estudiante al taxónomo profesional. Los códigos oficiales son documentos imponentes y difíciles de usar sin adiestramiento o guía especiales. Principalmente por estas razones, la Systematic Association auspició la producción de una guía sencilla de los principios de la nomenclatura y de las disposiciones de los varios códigos.

El primer capítulo, que resume el contexto general de la sistemática, sigue siendo una de las exposiciones más claras del tema. El glosario-índice es también excelente. Entre estas dos partes están los demás capítulos, en los que se explican las normas, tratando simultáneamente todos los códigos en cada paso de la descripción de los principios y operación de la nomenclatura. Entre los códigos, hay que distinguir el botánico y el zoológico, que se pueden considerar como que han alcanzado cierta estabilidad, sin que se esperen muchos cambios en el futuro. En cambio, el código bacteriológico ha tenido en 1975 una nueva edición radicalmente revisada y el código virológico tendrá que esperar bastante para

su edición definitiva, ya que la naturaleza de los virus como seres independientes no encaja en las normas vigentes para definir un ente viviente, planta, bacteria o animal.

En esta edición, se han hecho las correcciones para incluir los cambios hechos en los códigos desde la publicación de la primera edición en 1973. Esto incluye, aparte de los importantes cambios para bacterias, los pequeños cambios en el código botánico en el Congreso Internacional de Leningrado, en 1975; algunos cambios en el código zoológico; y las nuevas guías para los nombres de cultivares publicadas en 1974 (*Plant Varieties and Seeds Gazette* 109:1-3). Por último, se incluyen las reglas revisadas aceptadas de nomenclatura viral, publicadas en 1976.

PHARMACEUTICAL manufactures of the United States. 3rd ed. Park Ridge, N. J., Noyes Data, 1977. 266 p.

Esta tercera edición de esta guía muestra muchos avances en la información económica que se ofreció por primera vez en 1970. Ahora comprende 355 firmas fabricantes de productos farmacéuticos y de productos para el cuidado de la salud en los Estados Unidos. Incluye aquellas subsidiarias de firmas extranjeras que tienen fábricas en los Estados Unidos, pero excluye las firmas de Canadá y México; se enumeran, sin embargo, las subsidiarias de firmas de Estados Unidos en estos y otros países.

El examen de las subsidiarias de las grandes firmas revela la extensión con que otras firmas han sido absorbidas para formar conglomerados (Parke-Davis forma parte de Werner Lambert). El interés para nosotros estriba principalmente en que muchas de estas firmas producen también productos químicos para la agricultura o para la veterinaria.

Si buscamos los gigantes, basándonos en el volumen anual de ventas, nos encontramos que algunas de estas empresas no son exclusivamente farmacéuticas. Así, para 1976, las más grandes fueron (cifras en millones de dólares):

1. Dow Chemical	5652
2. American Home Products	2635
3. Foremost-McKesson	2553
4. Warner-Lambert	2349
5. American Cyanamid	2094
6. Bristol-Myers	1986
7. Pfizer	1887
8. North-American Philips	1724
9. Merck	1662
10. Johnson & Johnson	1493

Siguen muchas otras, entre las que figuran Eli Lilly, American Hospital Supply, Squib, Sterling, Abbot, y Rohm and Hass.

Para referencia rápida, la categoría de los productos se ha colocado inmediatamente debajo del nombre y la dirección de la firma. Los nombres comerciales de los principales productos figuran en cursiva con una explicación informal de su uso (por ejemplo: *Efodine* unguento antibacteriano). Finaliza el libro con un índice de unas 650 compañías, divisiones y subsidiarias

WRIGHT, M J y FERRARI, S A. (eds.). Plant adaptation to mineral stress in problem soils. Proceedings of a workshop held at the National Agricultural Library, Beltsville, Maryland (1976). Ithaca, N.Y., Cornell University, 1977 420 p.

El libro trata sobre la adaptación de las plantas a tensiones minerales en suelos con este tipo de problemas, principalmente debidos a la acidez o la alcalinidad, e incluye 32 trabajos agrupados en cinco secciones y un apéndice. En la primera sección se presenta el tema en forma generalizada con una discusión basada en el sistema de clasificación de suelos de la FAO/UNESCO, dos enfoques interesantes sobre suelos ácidos y alcalinos y un trabajo sobre necesidades futuras de fertilizantes

En la segunda sección se trata el potencial genético como medio para resolver los males causados por tensiones del suelo. Se discuten los problemas de toxicidad con aluminio y manganeso en cereales de grano y leguminosas, la adaptación de cultivos a condiciones de salinidad, la deficiencia de hierro y la toxicidad de boro en suelos alcalinos, la toxicidad de metales pesados y un capítulo pequeño relacionando la genética con los factores ambientales (incluyendo al suelo).

La tercera sección incluye dos artículos sobre la relación suelo-planta o la adaptación de las plantas a problemas de orden químico existentes en el suelo. Se discuten primero los problemas en suelos ácidos (disponibilidad) del fósforo y cationes y toxicidad de Al y Mn) y luego en suelos alcalinos y sódicos (exceso y deficiencia de micronutrientes)

La cuarta sección trata sobre la eficiencia de las plantas para utilizar los elementos esenciales. Se estudian por separado la capacidad de absorber N-P-K, Ca-Mg-Mo y B-Co-Cu-Mn-Zn

La quinta sección incluye once trabajos relacionados con métodos de selección en cultivos específicos (cebada, trigo, maíz, leguminosas y arroz) para resolver problemas edáficos específicos, principalmente de suelos ácidos

El apéndice incluye tres artículos sobre el problema de selección por problemas de suelos en la India y Brasil.

La obra presenta la idea de acondicionar la planta al medio en vez de lo inverso, idea que se ha generalizado en las últimas décadas, debido a los problemas de inflación y de contaminación. Este enfoque se puede asociar, aunque no se hace en el texto, con la práctica del cultivo múltiple para lograr las ventajas de este sistema sobre todo en regiones tropicales.

En el libro, los especialistas de suelos y los genetistas se asocian para resolver el problema de producción de alimentos, caso poco común en áreas en desarrollo, pero recomendado desde hace varios años por Borlaug, citado por McClung<sup>(1)</sup>

El texto, que incluye buenas bibliografías al final de cada sección, puede adquirirse en la Universidad de Cornell por el precio de \$ 3.00.

(1) McCLUG, A C. El papel de la edafología en el desarrollo de los trópicos americanos. In E. Bornemisza y A. Alvarado (eds). Manejo de suelos en la América tropical. San José, Costa Rica, Lehmann, 1976 pp 551-560.

A. ALVARADO  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
SAN JOSE, COSIA RICA

# Studies on quantitative inheritance in coffee

## 1. Flower number per inflorescence in *Coffea canephora* x *C. arabica*\* \_\_\_\_\_ S. VISHVESHWARA, C. S. SRINIVASAN\*\*

### COMPENDIO

*Se estudió el número de flores por inflorescencia en retrocruzas con café arábico y generaciones ulteriores de estos en un cruce de Coffea canephora x C. arábica y generaciones F 1, F2 y F3 de un cruce 'Devamachy' x arabica.*

*C. canephora tuvo mayor variabilidad y una media más alta que arabica. Las retrocruzas con arábica y las generaciones ulteriores de ellas mostraron una distribución sesgada hacia arabica. La variación sugirió una herencia poligénica para este carácter del café.*

*Se registró una hereditabilidad moderada (42%) El avance genético, expresado como porcentaje de la media, se encontró que era de 12,65 por ciento, basándose en el 5 por ciento mejor de la población de plantas.*

#### Introduction

**C**OFFEA *canephora* Pierre (robusta coffee) differs from *C. arabica* L. (arabica coffee) in many respects of which bigger size of the plant, higher flower number per inflorescence and higher number of inflorescences per node, lower chromosome number, self-incompatibility, late fruit ripening, tolerance to high temperature, diseases and pests, low water requirements for blossoming, and higher yields are well known (7). Work on inheritance of characters, especially quantitative characters and the inter-relationship of the two species has not received much attention.

*C. canephora* x *C. arabica* hybrids evolved at the Central Coffee Research Institute have been backcrossed to arabica and brought to advanced generations so as to stabilize characters and exploit those that possess

high resistance to rust (*H. vastatrix* B & Br) and have good yields. These crosses have now been taken up for studies on inheritance of characters; the observations on flower number per inflorescence, which is a character of importance as a yield component, are reported in this paper.

#### Material and methods

Two lines, described below, were selected for the study:

*Line 1.* *C. canephora* selection 274 (2n=22) X *C. arabica* cultivar 450 'Kents' (2n=44).

*Line 2.* 'Devamachy' hybrid (2n=44) X *C. arabica* collection 881 (2n=44).

*Line 1.* 274 is a bold fruited robusta selection under large scale cultivation in India. 'Kents' is a cultivar known for good agronomic characters and cup quality. Kents has shown 'D' type resistance to rust (4), but has shown severe rust infection and consequent defoliation under Indian field conditions. The generations selected in this cross were as follows:

\* Received for publication September 9th, 1976

\*\* División of Botany, Central Coffee Research Institute, Coffee Research Station P.O., -577 117, Chikmagalur District, Karnataka State, India.





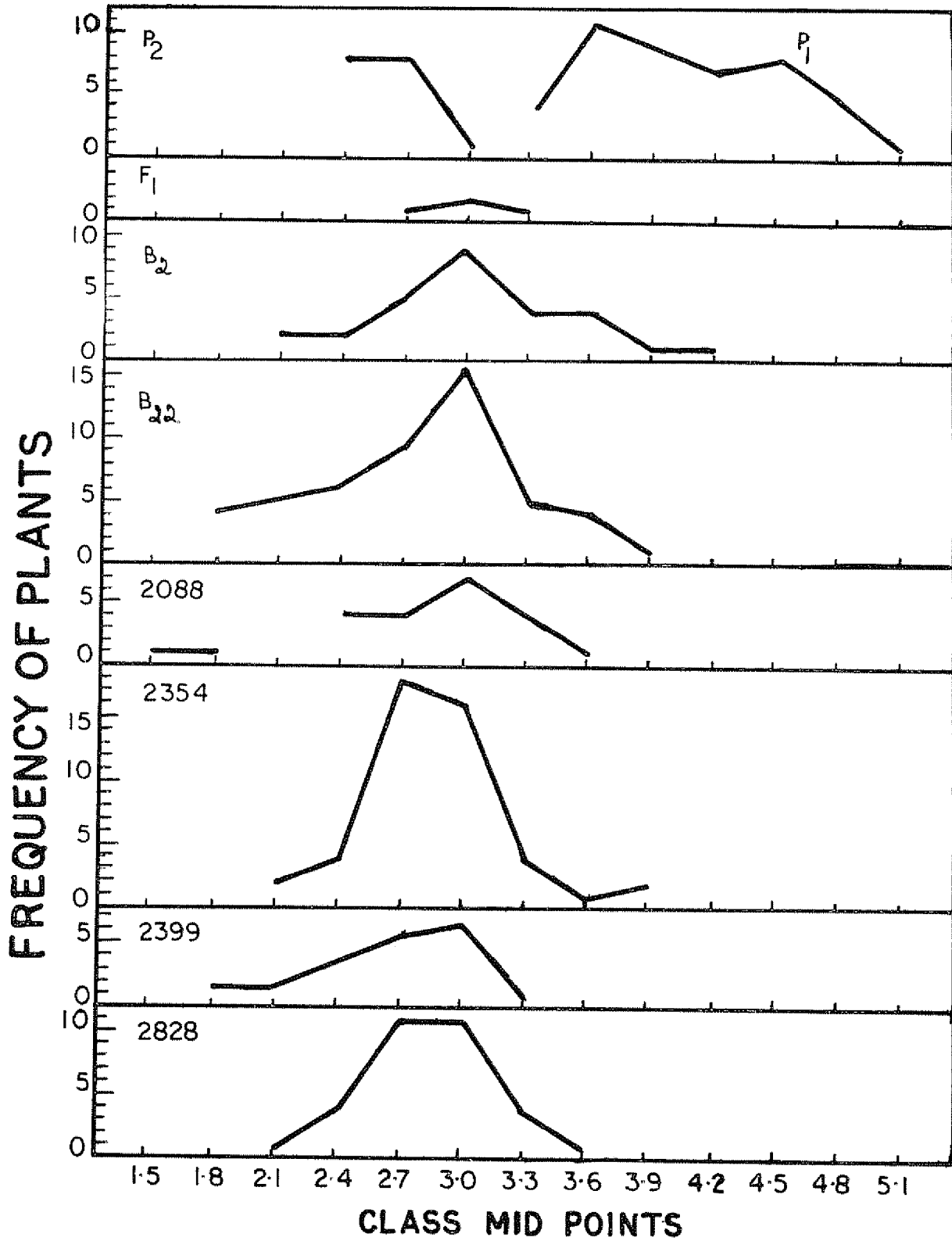


Fig 1.—Frequency polygons of mean flower number per inflorescence in parents and progenies of the cross *Coffea canephora* X *C. arabica* cv *Kents*

From the above results, it may be inferred that advanced generations from the second backcross are skewed more towards arabica and no transgressive segregation is seen in the backcrosses or advanced generations.

The parent plant in canephora, and the plants used in back crosses and succeeding generations are either at the mid point of the progeny frequency distribution or in lower classes. This, as well as the backcrossing to arabica, may account for the non-realisation of progeny means approaching that of canephora (4.2). It appears that back-crossing to arabica has initially influenced the mean and encouraged the accumulation of genes for lower flower number than in canephora.

*Line 2. 'Devamachy' x S 881 arabica.* Frequency distribution of means is represented in Figure 2 and other statistics are given in Table 2.

'Devamachy' is a spontaneous robusta x arabica hybrid with  $2n=44$ . The phenotype suggests that it might have undergone one or more natural back-crossings with arabica. The frequency distribution (Figure 2), which is similar to that of the backcross generations in the other line, support this hypothesis.

The 881 arabica differed from 'Kents' arabica in its higher variability and higher mean. A similar trend has been reported in 'S 12 Kaffa', another exotic introduction from Africa (5).

$F_1$  variability was lower than that of 'Devamachy' and the mean approached that of 'S 881' arabica. A wider range of distribution of means (1.5 to 4.2) and a higher coefficient of variation in the  $F_1$  indicated the better status of  $F_1$  in this line over the back-cross generations in the other line.  $F_2$  progeny raised from a plant with a mean flower number per inflorescence of 3.3, showed an overall mean of 3.4.

$F_3$ s (2836 & 2967) derived from plants with class values of 2.7 and 3.3 respectively, showed expected trends.

Table 2 Mean, standard error and coefficient of variation for flower number per inflorescence in parents and progenies of the cross 'Devamachy' hybrid x *C. arabica* collection 881.

Parent/Progeny	No. of plants	Mean $\pm$ S.E.	C.V. (%)
Devamachy hybrid	49	2.8 $\pm$ 0.066	16.5
<i>C. arabica</i> Coll. 881	12	3.1 $\pm$ 0.103	11.8
$F_1$ (1559)	37	3.1 $\pm$ 0.075	14.8
$F_2$ (2269)	34	3.4 $\pm$ 0.086	14.7
$F_3$ (2836)	31	2.8 $\pm$ 0.086	17.1
$F_3$ (2967)	34	3.4 $\pm$ 0.050	8.6

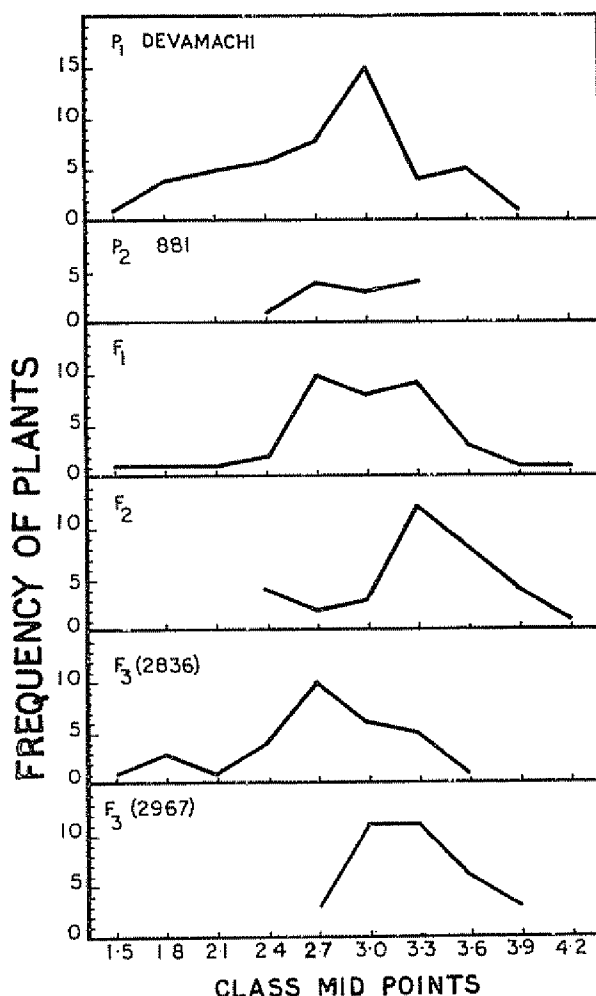


Fig. 2—Frequency polygons of mean flower number per inflorescence in parents and progenies of the cross 'Devamachy' x *C. arabica* Coll. 881.

The regression of progeny mean on parental value gave a coefficient of  $0.4187 \pm 0.287$  and hence the heritability estimated is about 42 percent. This shows that flower number per inflorescence in the crosses is moderately heritable. Number of flowering nodes per primary branch in arabica has also been reported to show low to moderate heritability (6). This perhaps indicates that characters connected with reproductive fitness generally show low heritability traits (3).

Estimated genetic advance for this character indicated that the mean of  $F_3$  in the 'Devamachy' x 'S 881' cross can be advanced by 12.65 per cent by selecting the top 5 per cent of the plants existing in this progeny. The expected mean of  $F_3$  was 3.8 flowers per inflorescence.

Progenies from all the plants in 905, 1156 (Table 1) and 1559 (Table 2), in which a few plants display higher class values, have been established and these could be of value in isolating better lines

*C. canephora* shows a wider range in the distribution of mean flower number per inflorescence (3.3 to 5.1), with an overall mean of 4.2. The upper limit in the hybrids studied does not exceed 4.2. The higher flower number per inflorescence and the higher number of inflorescences per node seen in *C. canephora*, appears to be closely related to the bigger size of the peduncle and girth of the branch. The progenies studied here, show arabica to be an intermediate type in growth characteristics, and therefore may not provide full scope for expression of higher flower number as seen in *canephora*. Backcrossing to *canephora*, therefore, also requires attention.

#### Summary

Flower number per inflorescence was studied in backcrosses with arabica and advanced generations from them in a cross *C. canephora* x *C. arabica* and F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> generations of a cross 'Devamachy' x arabica.

*C. canephora* showed higher variability and higher mean than arabica. Backcrosses to arabica and advanced generations from them showed skewed distributions

towards arabica. The variation suggested polygenic inheritance for this character in coffee.

Moderate heritability (42%) was recorded. Genetic advance expressed as percentage of the mean was found to be 12.65 per cent assuming top 5 per cent selection

#### Literature cited

1. ALLARD, R. W. Principles of plant breeding. New York, John Wiley & Sons, 1960. 485 p
2. CHINNAPPA, C. C. Interspecific hybrids of *Coffea canephora* and *C. arabica*. Current Science 37: 676-77. 1968
3. FALCONER, D. S. Introduction to quantitative genetics. Edinburgh, Oliver & Boyd, 1960. 365 p
4. RODRIGUES, Jr. C. J., BETTENCOURT, A. J. and RIJO, I. Races of the pathogen and resistance to coffee rust. Annual Review of Phytopathology 13: 49-70. 1975.
5. SRINIVASAN, C. S. Studies on yield components in *Coffea arabica*. Observations on flower clusters and fruit set in 13-4-1 S 12 Kaffa Turrialba 22: 27-29. 1972
6. ——— and VISHVESHWARA, S. Correlation between some characters associated with yield in *Coffea arabica*, L. Journal of Plantations Crops 1 (Supplement): 11-14. 1973
7. VISHVESHWARA, S. Some aspects of robusta coffee in India. Indian Coffee 34: 209-211. 1970

## Reseña de Libros

UNDEREXPLOITED TROPICAL plants with promising economic value. Washington, D. C., National Academy of Sciences, 1975. 188 p.

Por lo menos 36 plantas tropicales tienen "potencial significativo" como nuevas fuentes de alimentos o materias primas según este informe publicado por el National Research Council de los Estados Unidos. Un comité especial consideró hasta 400 plantas tropicales, no explotadas todavía, que botánicos de todas partes del mundo consideraron con méritos para ser investigadas. Una revisión y evaluación completa de la literatura suministró por primera vez evidencia detallada en apoyo de las afirmaciones de los conservacionistas de que las 10 mil especies vegetales en peligro podrían contener muchas de valor económico.

Dos de las 36 plantas escogidas han recibido el honor de ser objeto de sendas publicaciones por el NRC en 1975: la jojoba (*Simmondsia chinensis*), de la que nos hemos ocupado en *Turrialba* (Vol 25, N° 3), y que produce una cera parecida a la del cachalote, y la leguminosa de alta proteína, *Psophocarpus tetragonolobus*, de la cual se comen hasta las raíces tuberosas inmaduras. Un árbol del desierto de Atacama, Chile, el tamarugo,

*Prosopis tamarugo*, por ejemplo, que puede suministrar forraje abundante aún cuando crezca en suelo cubierto con una capa de sal de un metro, tiene aplicaciones obvias en suelos salinos naturales o ensalitrados por el riego, y se está probando intensamente por Israel en el Negev y por España en las islas Canarias (Cf. *Turrialba* Vol 23, p 253). Y un arbusto de Texas, el guayule, *Parthenium argentatum*, produce más caucho que el *Hevea*.

El potencial principal de estas plantas es como alimentos más bien que como materias primas. Aún la cera de la jojoba corre el riesgo de la competencia de productos sintéticos que se están probando ante la desaparición del cachalote, principal fuente hasta ahora. No se aprecia generalmente que la humanidad depende casi totalmente de no más de 20 cultivos alimenticios. El panel del NRC, presidido por E. S. Ayensu de la Smithsonian Institution y R. E. Schultes de la Universidad de Harvard, llama la atención sobre una gramínea australiana, *Echinochloa turnerana*, que rinde grano nutritivo en suelos con muy poca agua; a una planta marina de México, *Zostera marina*, cuyo grano produce harina; a una fruta del sudeste de Asia, el mangostan, *Garcinia mangostana*, de fama legendaria pero poco difundida lejos de su hábitat natural; y a una planta ornamental

o de bordes, de América Central, la chaya, *Cnidoscolus*, con hojas nutritivas que se consumen como la espinaca. Algunas de estas plantas, muy apreciadas en sus lugares de origen, como la quinua, *Chenopodium quinoa*, y el pejibaye, *Guiljelma gasipaes*, es probable que sean adaptadas a condiciones ecológicas restringidas y haya obstáculos naturales a su difusión más amplia.

La afirmación del panel de que la dependencia del hombre de un número pequeño de plantas representa un gran riesgo parece ser alarmista. Los pueblos más atrasados, que generalmente se piensa que están al borde del hambre, son en muchos casos los que dependen de estas plantas poco conocidas, que ellos mismos han domesticado, y que probablemente no figuren en las estadísticas en las que se basan las evaluaciones del estado alimenticio de las poblaciones humanas. Esto es cierto también para la proteína animal, pues los estimados oficiales no toman en cuenta alimentos como monos, larvas de insectos, saltamontes y hormigas, que por más repulsivos que nos parezcan, son apreciados por los que los consumen. Es probable que en el futuro se haga necesario buscar nuevas fuentes de alimentos, pero estas nuevas fuentes si no se hacen más productivas, serán usadas cuando las fuentes actuales no se den abasto y sólo en las zonas ecológicas en que los 20 cultivos no prosperan. Mientras llega ese día, lo lógico y conveniente es iniciar el mejoramiento de estas 36 plantas en los lugares en los que se utilizan actualmente. Con esto, no sólo se prestaría ayuda a regiones subdesarrolladas sino que se haría más factible el aprovechamiento futuro de estos nuevos cultivos por otras regiones del mundo.

ADALBERTO GORBITZ  
INSTITUTO INTERAMERICANO DE  
CIENCIAS AGRICOLAS  
SAN JOSE, COSTA RICA

JOHNSON, JEANNE C. Industrial enzymes; recent advances. Park Ridge, N J, Noyes Data, 1977. 348 p. US\$ 39.

Las enzimas fueron usadas sin saberlo por el hombre prehistórico, como levaduras para el pan, fermentos para cerveza y vino, cuajo para el queso, madre para el vinagre, etc. No fue sino hasta 1830 que una enzima fue aislada por Anselme Payen con la precipitación alcohólica del extracto de malta, y 61 años más tarde, en 1894, una enzima fue producida industrialmente cuando Taka-Diastasa se produjo en el Japón como ayuda digestiva.

Desde entonces, el uso de las enzimas en productos industriales y del hogar (papaína para ablandar la carne, y detergentes a base de jugo pancreático) se producen industrialmente. Desde 1930, la alfa-amilasa se ha producido por bacterias y domina, con sus derivados, el mercado actual de enzimas industriales. Más recientemente, la isomerasa glucosa, que convierte la glucosa en la mucho más dulce fructosa, goza de gran demanda por parte de los industriales de azúcar. Y para el futuro, se están investigando procesos enzimáticos para la purificación del aire y de las aguas excluidas; la conversión de celulosa, particularmente celulosa de desecho, en glucosa; y el uso de enzimas de la fijación del nitrógeno en cultivos no leguminosos. Es más, a juzgar por lo publicado en la segunda mitad de 1977, es probable que la "ingeniería genética" tenga su primera aplicación industrial en la elaboración de insulina por bacterias: se ha dado cuenta de haber transferido un gen humano para la producción de insulina a la conocida bacteria *Escherichia coli*.

El puente entre la investigación y la aplicación industrial lo constituye la literatura de patentes, y este es el campo en que opera Noyes Data. Su colección de libros basados en las patentes de los Estados Unidos es útil para cubrir la brecha entre la investigación básica y la transferencia de tecnología química. Esta información es descuidada por los técnicos que dependen principalmente de la literatura periódica contenida en las revistas científicas.

El libro se ha limitado a la revisión de un poco más de 200 patentes emitidas en los últimos siete años. Describe 194 procesos incluidos en 208 patentes sobre la producción y uso de enzimas en procesos industriales. No incluye las enzimas para usos médicos (la producción de insulina por *E. coli* no está aquí) o para análisis clínicos.

Los primeros cuatro capítulos se ocupan de procesos generales y de la inmovilización o insolubilización de enzimas (en realidad, un atrapamiento que permite recuperar las enzimas para volverlas a usar). Veintidós procesos se refieren a azúcares, 29 a almidón y 10 a polisacáridos más altos. Siguen enzimas proteolíticas para detergentes (15 procesos), y otros usos (29 procesos para fabricación de quesos, productos de soya, elaboración de cueros, y otros). Como es de esperar en un libro basado en patentes, la autora evade tratar la espinosa cuestión de si la biotecnología es patentable.

En resumen, un libro útil de consulta que puede ayudar al investigador a establecer una base sólida en sus conocimientos antes de iniciar una investigación en el campo de las enzimas.

ADALBERTO GORBITZ  
INSTITUTO INTERAMERICANO  
DE CIENCIAS AGRICOLAS  
SAN JOSE, COSTA RICA

# Production function analysis of irrigation water and nitrogen fertiliser in swamp rice production<sup>\*1/</sup>

M. R. IRUTHAYARAJ\*\*, Y B MORACHAN\*\*

## COMPENDIO

*Se condujo un experimento en la Tamil Nadu Agricultural University, en Coimbatore India, durante 1971 a 1973, con las variedades de arroz 'Kannaki', 'Bala', en los periodos de monzón (húmedo) y verano (seco), con cinco tratamientos de manejo de agua y cinco niveles de nitrógeno. De los modelos de producción probados, se encontró que el cuadrático tenía el mejor ajuste, indicando que estas variedades requieren menos cantidad de agua y una cantidad mayor de nitrógeno para un rendimiento mayor de grano.*

### Introduction

IRRIGATION is the prime requisite for successful crop production, particularly in rice, the staple food of Tamil Nadu. Out of the 3.6 m ha of cultivated land in Tamil Nadu, 2.5 m ha, or 69.3 per cent are under rice. This area under rice utilises approximately 87 per cent of the available irrigation sources of the State. Due to the low storage position in the dams and also to pressure for water for other purposes, agriculture has to compete for water on the basis of its productivity and efficiency. Nitrogenous fertilisers have contributed significantly in recent years to the increases in rice yields but nitrogen requirements differ with the different water management practices. The maximising or economically optimum water and nitrogen input rates require a knowledge of the production function for water and nitrogen. The main object of this study is to determine which production function model is best suited for fertiliser and water use, improving water and fertiliser management and in planning future research in water and fertiliser use.

### Materials and Methods

The experiment was conducted at the wet land farm of the Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, India during the years 1971 to 1973. Coimbatore is situated at 11°N and 77°E, at an altitude of 498 m above mean sea level. The average annual rainfall of 613.6 mm was obtained in 49.8 rainy days.

The treatments were:

(I) water management treatments:  $I_1$  - maintaining a 5 cm water depth daily throughout the crop growth;  $I_2$  - maintaining a 5 cm water depth daily throughout the crop growth with stoppage of water for five days only at the end of tillering stage;  $I_3$  - maintaining saturation daily throughout the crop period;  $I_4$  - maintaining a 5 cm water depth daily for four days followed by stoppage of water for four days; and  $I_5$  - maintaining a 5 cm of water depth daily for eight days followed by stoppage of water for eight days.

(II) The varieties tested were  $V_1$  - 'Kannaki' (IR 8 x TKM 6) and  $V_2$  - 'Bala' (N 22 x T [N<sub>1</sub>]).

(III) The nitrogen levels were  $N_0$  - 0 kg,  $N_1$  - 60 kg,  $N_2$  - 120 kg,  $N_3$  - 180 kg and  $N_4$  - 240 kg per hectare. A common dose of 60 kg  $P_2O_5$  and 60 kg  $K_2O$  per hectare were applied uniformly to all the plots.

The experiment was laid out in a split plot design with water management and varieties allotted to the main plot and the nitrogen levels allotted to the sub-plots, with three replications. In all, two monsoon (wet)

\* Received for publication July 7th, 1977

1/ Forms part of the Ph. D. Thesis of the first author, submitted to the Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore-641 003, India.

\*\* Associate Professor of Agronomy, and Director of Research respectively Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore-641 003, India.

and two summer (dry) crops were harvested. The crops were transplanted on 30.7.1971, 18.2.1972, 13.7.1972 and 5.2.1973.

The experimental data obtained during two summers and two monsoons with two varieties, were utilised for this purpose. Of the several production functions available the linear, the square root, quadratic and Cobb-Douglas functions (equation 1, 2, 3, 4) below were chosen for consideration as suggested by Kloster and Whittlesey (3). Each of the equations was fitted to the data, using least square multiple regression analysis.

- (1)  $Y = a + b_1N + b_2W + b_3NW$  (Linear)
- (2)  $Y = a - b_1N - b_2W + b_3N^{1/2} + \frac{3}{4}W^2 + b_5N^{1/2}W^{1/2}$   
(Square root)
- (3)  $Y = a + b_1N - b_2W - b_3N^2 + b_4W^2 + b_5NW$   
(Quadratic)
- (4)  $Y = aN^{b_1}W^{b_2}$  (Cobb-Douglas)

Where:

Y = is the grain yield of rice in kg per hectare  
 N = is the nitrogen applied in kg per hectare  
 W = is the total water applied in cm per hectare  
 $b_1$  to  $b_5$  = are the regression coefficients  
 a = is a constant derived from regression

### Results and Discussion

The multiple determination coefficient ( $R^2$ ) and the 'F' statistics for the linear, square root, quadratic and Cobb-Douglas equations for both varieties in two seasons are furnished in Table 1. The  $R^2$  values for the quadratic function were higher than for the other functions. It was recognised that the  $R^2$  values for the Cobb-Douglas equation were not directly comparable with the others because these values were estimated in logarithmic form. The quadratic function was chosen, since the magnitude of the multiple determination coefficient ( $R^2$ ) was greater than others; the logic being that it would fit the data and the degree of significance of its terms.

The regression coefficients are presented in Table 2, with  $b_1$  and  $b_2$  values being the regression coefficient of linear terms of nitrogen and total quantity of water respectively, and  $b_3$  and  $b_4$  being the quadratic terms. The interaction of nitrogen and total water requirement was expressed by the  $b_5$  (N x W) term. This model accounted for the effect of nitrogen and total water requirement in explaining yield variations from season to season and variety to variety. The improved varieties showed a stronger nitrogen response in all the seasons and in both the varieties by having a positive regression coefficient for nitrogen ( $b_1$  values) showing that the

Table 1—Coefficient of multiple determination ( $R^2$ ) and 'F' statistics for linear, square root, quadratic and Cobb-Douglas equation for two varieties of rice in different seasons.

Variety	Season	Particulars	Equation			
			Linear	Square root	Quadratic	Cobb-Douglas
Kannaki (V <sub>1</sub> )	1972 summer	Coefficient of multiple determination ( $R^2$ ) 'F' statistics	0.59 10.24	0.86 23.91	0.88 27.61	0.69 24.84
	1973 summer	Coefficient of multiple determination ( $R^2$ ) 'F' statistics	0.58 9.56	0.71 9.16	0.72 9.89	0.49 10.57
Bala (V <sub>2</sub> )	1972 summer	Coefficient of multiple determination ( $R^2$ ) 'F' statistics	0.63 11.70	0.82 16.80	0.91 39.79	0.67 22.68
	1973 summer	Coefficient of multiple determination ( $R^2$ ) 'F' statistics	0.62 11.20	0.82 17.06	0.85 21.54	0.68 23.68
Kannaki (V <sub>1</sub> )	1971 monsoon	Coefficient of multiple determination ( $R^2$ ) 'F' statistics	0.72 17.64	0.92 42.03	0.96 81.66	0.94 183.99
	1972 monsoon	Coefficient of multiple determination ( $R^2$ ) 'F' statistics	0.69 15.34	0.73 10.44	0.71 9.40	0.51 11.46
Bala (V <sub>2</sub> )	1971 monsoon	Coefficient of multiple determination ( $R^2$ ) 'F' statistics	0.91 69.92	0.94 57.70	0.97 121.32	0.83 52.65
	1972 monsoon	Coefficient of multiple determination ( $R^2$ ) 'F' statistics	0.72 17.85	0.73 10.26	0.78 13.22	0.59 15.74

Table 2—Regression coefficients for grain yield on nitrogen and water requirement in two varieties of rice in different seasons under quadratic model.

Variety	Season	Constant	$b_1(N)$	$b_2(W)$	$b_3(N^2)$	$b_4(W^2)$	$b_5(NW)$	No of observations	Coefficient of determination
Kannaki ( $V_1$ )	1972 summer	36884.89	79.73	-772.65	0.03	4.29	-0.77	25	0.88
	1973 summer	32695.87	64.96	-676.73	0.01	3.74	-0.60	25	0.72
Bala ( $V_2$ )	1972 summer	22276.74	50.00	-522.72	-0.02	3.23	-0.39	25	0.91
	1973 summer	26829.81	62.30	-655.89	-0.04	4.08	-0.50	25	0.85
Kannaki ( $V_1$ )	1971 Monsoon	4087.46	31.85	-28.06	-0.09	0.14	-0.001	25	0.96
	1972 Monsoon	13878.53	39.62	-233.58	0.004	1.20	-0.28	25	0.71
Bala ( $V_2$ )	1971 Monsoon	172.36	25.23	+24.53	-0.06	-0.18	0.05	25	0.97
	1972 Monsoon	6289.32	41.63	-162.08	0.03	1.24	-0.44	25	0.78

grain yield increase was due to nitrogen. High nitrogen application tended to increase the plant characters with a high positive correlation in increasing grain yield. High nitrogen levels encourage greater root development which expands the volume of soil from which plants can extract moisture.

Considering the total water applied or water requirement on the yield, a negative regression coefficient ( $b_2$ ) was obtained indicating that these high yielding varieties showed a negative relationship in that, large amounts of water lower down the yield. This had also been pointed out under  $I_3$  treatment, where the water use efficiency was maximum in all the seasons and varieties studied under this experiment. Ghildyal and Jana (2) reported that saturated moisture regime gave the higher yield during the June to September season. Enyi (1) reported maximum yield under saturated conditions. The interaction of nitrogen and quantity of water applied ( $N \times W$ ) regression coefficients also showed a negative trend in almost all cases. Hence it is evident that these varieties do not require large quantities of water but they require higher doses of nitrogen so as to increase yields. The best suited prediction model is the quadratic equation which provided a satisfactory basis for assessing the impact of nitrogen and total quantity of water applied on grain yield for the two varieties in each of the seasons.

#### Summary

An experiment was conducted at Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, India during 1971-1973 with Kannaki and Bala varieties of rice in monsoon (wet) and summer (dry) seasons with five water management treatments and five nitrogen levels. Of the production models tried it was found that the quadratic model is the best, indicating that these varieties require less water and higher amounts of nitrogen for increased grain yield.

#### Literature cited

1. ENYI, B. A. C. Comparative studies of upland and swamp rice varieties (*Oryza sativa* L.) I. Effective soil moisture on growth and nutrient uptake. *Journal of Agricultural Science* 71: 1-13. 1968.
2. GHILDYAL, B. P. and JANA, R. K. Agrometeorological environment affecting rice yield. *Agronomy Journal* 59: 286-287. 1967.
3. KLOSTER, L. D. and WHITTLESSEY, N. K. Production function analysis of irrigation water and nitrogen fertilizer in wheat production. Pullman, Washington Agricultural Experiment Station, Bulletin 746, 1971. 9 p.



## Reseña de Libros

DEMERATH, N. J. III, LARSEN, O y SCHUESSLER, R.F. eds. *Social policy and sociology* New York, Academic Press, 1975. 365 p

El volumen aborda un problema que desde el principio del siglo ha analizado la sociología: la relación existente entre el análisis sociológico y la política social, y esto no se discute en el vacío. La discusión emerge de una serie de análisis críticos relacionados con algunos casos de investigación sociológica.

Gran parte de su contenido fue presentado en la Conferencia sobre "Investigación aplicada y estudios de post-grado" tenida en 1972 en Carmel, California.

La primera parte del volumen, y la más larga, se concentra sobre los más recientes estudios sociológicos relacionados con la toma de decisión y la política de acción de organismos públicos. La segunda parte está dedicada a la metodología empleada en los cursos de post-grado de las escuelas de sociología de Estados Unidos para que el estudiante se familiarice con el problema del análisis y decisión política. Finalmente en el Epílogo, se muestran las conclusiones a que han llegado los editores.

Los artículos y comentarios de la primera parte se articulan un poco arbitrariamente bajo tres subtítulos: A. Desigualdad social y sus efectos; B. Presión individual en el círculo familiar; C. La juventud americana y sus problemas.

Los artículos de Rossi, Alford, Schuman, Kasarda y Preston tienen un sabor maltusiano: todos tocan la desadecuación entre población y disponibilidad de bienes y servicios de una parte, y de otra los efectos de esa desadecuación. Los demás artículos de la primera sección describen en forma clásica diversos problemas de la sociedad norteamericana. ¿Por qué estas descripciones y análisis causal de variables en sentido matemático han sido inoperantes para formular políticas eficientes y operacionales? En forma reducida una respuesta crítica podría ser:

- 1 Los sociólogos se preocupan mucho de estudiar variables relevantes dentro de una teoría, pero no tienen mucha preocupación en saber si sus resultados encontrados son aplicables o no.

- 2 Se preocupan mucho más de las variables causales y no de saber si esas variables son controlables por una decisión política.

- 3 Los políticos presionan a los sociólogos para que hagan estudios rápidos con muestras o muestreos inadecuados.

Estas observaciones que se encuentran en muchos estudios están a la base de la inoperancia de gran parte de los estudios sociológicos.

La segunda parte del libro es un conjunto misceláneo de diversos artículos. R. J. Hill ofrece, en forma condensada, la formación recibida por los estudiantes en varias facultades de sociología de Estados Unidos. Otros autores tratan la historia de los diversos tipos de capacitación sociológica dentro de las ciencias sociales.

Un hecho relevante es que hasta los años 60 los sociólogos fueron mucho más profesores que investigadores dedicados a estudiar las condiciones bajo las cuales se puede mejorar la situación socio-económica de los grupos sociales marginados. Los diversos artículos no ofrecen ningún consenso en proponer algunas soluciones para mejorar el sistema de estudio de los departamentos de Sociología de las Universidades norteamericanas.

En resumen, ni los estudios analizados por los autores, ni el análisis de los *currícula* de las facultades norteamericanas ofrecen una pista sólida a los autores para indicar a los lectores algunos aspectos fundamentales de la relación existente entre análisis sociológico y política social.

A nuestro juicio, el título del libro es mucho más ambicioso que su contenido. El problema de la relación existente entre el análisis sociológico y la política social fue a principios del siglo analizado por Max Weber. Los artículos del libro ignoran la tradición alemana e inglesa sobre el tema. Ignoran también los aspectos que ha hecho resaltar G. Myrdal sobre variables causales y variables controlables. El libro deja en evidencia que un "symposium" de "hombres de ciencia" no siempre aclara los problemas en torno a los cuales discuten esos mismos hombres.

EDUARDO SALVADO  
INSTITUTO INTERAMERICANO  
DE CIENCIAS AGRICOLAS  
PORT-AU-PRINCE, HAITI

# Tipos de raíces y capacidad de absorción de fósforo en caña planta. (*Saccharum* sp).<sup>\*1/</sup>

M E RESNIK\*\*, S G DE PALOMAR\*\*, H MARTINEZ\*\*, J. A. RODRIGUEZ REY\*\*

## ABSTRACT

*Phosphate uptake studies were carried out with different types of (detached) roots of the sugarcane plant, seven weeks and five months after planting. Uptake by shoot roots increases with time, particularly at low phosphate concentration. Furthermore, their relative contribution to total uptake by the whole root system increases far beyond its relative weight. Possible implications of agricultural interest are discussed.*

### Introducción

LA CAÑA de azúcar es una planta que, a lo largo de su desarrollo presenta un sistema radical formado por raíces de distintos orígenes y características. Reproducida en forma agámica, los tallos utilizados como "semilla" forman primeramente un sistema de raíces provenientes de la banda radical del nudo, cuyos iniciales se encuentran predeterminados (1), sistema que puede alcanzar un desarrollo considerable aún antes de que se produzca la brotación de las yemas. Luego de la aparición del brote se producen raíces adventicias (4) en la base del mismo, que pueden más tarde alcanzar un volumen comparable o mayor que el sistema proveniente de la banda radical. La nutrición mineral de la caña planta, en un momento dado, depende de la capacidad de absorción de las distintas raíces y de la medida de la participación de las mismas en el total del sistema radical.

En este trabajo se estudian las características de las distintas raíces de la caña planta y su capacidad de absorción de fósforo en diferentes momentos de su desarrollo.

### Materiales y métodos

Segmentos centrales de tallos ("semilla") del cultivar 'NCo 310', provenientes de caña soca de tres años, se enraizaron en arena o en cilindros metálicos desarmables en suelo franco, y se mantuvieron en invernáculo con riego abundante. Se realizaron experimentos similares a las siete semanas y a los cinco meses: para los primeros se utilizó el material sembrado en arena, y para los segundos en suelo franco. En estos últimos, las plantas, con su sistema radical intacto, se dejaron en agua corriente aereada 48 horas antes de extraer las raíces para los experimentos.

Se clasificaron las raíces en primarias, secundarias y de mayor grado, y también según su diámetro. Se determinó el peso seco total de cada tipo de raíz por planta y su superficie, así como su contribución relativa al total del sistema radical. Luego de separarse los distintos tipos de raíces y mantenerse en agua corriente con aeración por 24 horas, se colocaron en soluciones aereadas de  $^{32}\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-2}$  M con actividades específicas de  $\sim 0,1$  mC/ $\mu$  mol y  $0,1$  mC/m mol respectivamente, durante 2 horas, a  $20\text{ C} \pm 0,5$ , aproximadamente  $0,1$  g (en materia seca) de raíz en 20 ml de solución. Al cabo de ese período se lavó el espacio libre acuoso en agua destilada a  $0\text{ C}$  durante 20 minutos, se secó en estufa a  $80\text{ C}$ , y se determinó la radiactividad por medio de un escalímetro con un tubo GM, sobre alícuotas molidas, en condiciones standard de geometría. Por medio de la actividad específica conocida se determinó la cantidad absoluta de fósforo absorbido en cada caso, que se expresa por unidad de

\* Recibido para la publicación el 12 de agosto de 1976.

1/ Trabajo de la Cátedra de Fisiología Vegetal. El Dr. Resnik trabaja actualmente en Centro de Pesquisas do Cacau, Caixa Postal 7, Itabuna, Bahía, Brasil. Los autores agradecen a la Estación Experimental Agrícola de Tucumán por la provisión de "semilla" de caña de azúcar.

\*\* Facultad de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional de Tucumán, Avenida Roca 1900, San Miguel de Tucumán, Argentina.

peso seco de cada tipo de raíz. De su capacidad de absorción se calculó el total de absorción de cada tipo de raíz por planta y su aporte porcentual en el total. La relación de su aporte porcentual en la absorción/aporte porcentual al peso seco (o superficie) total de raíces, se denominó "factor de aporte", cuyos valores, con ser  $> 1$ ,  $= 1$  ó  $< 1$  indican eficiencia mayor, igual o menor que la del sistema radical total en promedio.

Los experimentos se realizaron con cuatro repeticiones, siendo los valores tabulados las medias aritméticas de los valores obtenidos.

### Resultados

A la séptima semana de la siembra el sistema radical estaba constituido como lo indican la Figura 1 y el Cuadro 1.

La caracterización de los distintos tipos de raíces a los 5 meses de la siembra dio resultados que se presentan en la Fig. 2 y Cuadro 2.

La capacidad de absorción de fósforo de las distintas raíces se presenta en el Cuadro 3 para las 7 semanas y en el Cuadro 4 para los 5 meses.

El "factor de aporte", determinado como la relación entre el porcentaje de lo absorbido por cada tipo de raíz dentro del total del sistema radical en relación a su participación porcentual en peso o en superficie, puede verse en el Cuadro 5.

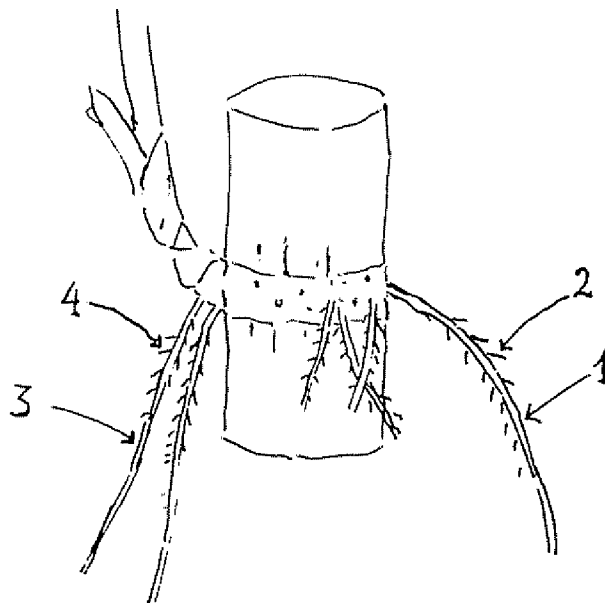


Fig. 1.—Tipos de raíces en plantas de caña de azúcar a las 7 semanas de la siembra  
1: Primarias del nudo, largas.  
2: Secundarias finas y cortas del nudo.  
3: Primarias del brote, largas.  
4: Secundarias finas y cortas del brote.

Se observa que a las 7 semanas las raíces del nudo presentan factores de aporte generalmente mayores que la unidad, mientras que las del brote son generalmente menores. En cambio, a los 5 meses, todos los valores son bajos para las raíces del nudo y muy elevados en las del brote.

Cuadro 1.—Características de los distintos tipos de raíces de caña planta a las 7 semanas de la siembra. Los números que denominan los distintos tipos de raíces según leyenda de Fig. 1.

Tipo de Raíz		Díámetro mm	Peso seco mg/planta	Superficie cm <sup>2</sup> /planta	% del peso total	% de la sup. total
1	nudo	0,48	228	49,7	26,0	18,8
2		0,26	78	78,7	8,9	29,7
3	brote	2,65	556	122,0	63,4	46,1
4		0,24	14	14,2	1,7	5,4

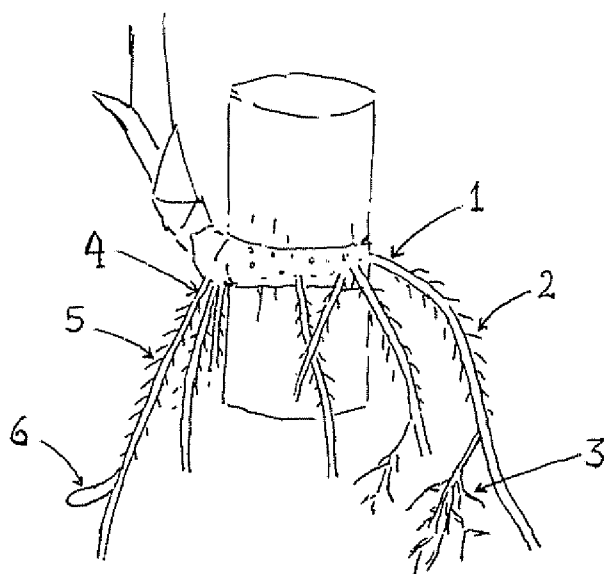


Fig. 2.—Tipos de raíces en plantas de caña de azúcar a los 5 meses de la siembra.

- 1: Primarias del nudo, largas
- 2: Secundarias finas y cortas del nudo.
- 3: Secundarias y terciarias del nudo, finas, largas y ramificadas.
- 4: Primarias del brote, largas.
- 5: Secundarias finas y cortas del brote.
- 6: Secundarias engrosadas cortas del brote.

### Discusión

Se distinguen netamente seis tipos de raíces a los 5 meses de la siembra, pero a las 7 semanas solamente las hay de cuatro tipos, faltando aún las raíces engrosadas y cortas del brote y las secundarias finas y ramificadas del nudo, que más tarde constituyen una verdadera cabellera, de elevada incidencia en el sistema radical total. El crecimiento de los dos sistemas radicales entre las 7 semanas y los 5 meses fue dispar, probablemente debido a las distintas condiciones en que fueron cultivadas las plantas.

Cuadro 3.—Fósforo absorbido por raíces aisladas de caña de azúcar de 7 semanas a distintas concentraciones de fosfato. Período de absorción: 2 horas

Factor de concentración indica absorción a  $10^{-2}M$ / absorción a  $10^{-5}M$ . Los números que denominan los distintos tipos de raíces según Fig 1.

Tipo de Raíz	Fósforo absorbido		Factor de Concentración
	$10^{-2} M$ $\mu$ moles/g seco	$10^{-5} M$ n moles/g seco	
1 nudo	26,3	213	123
2	31,8	456	69
3 brote	21,9	136	161
4	20,9	202	103

Todos los tipos de raíces estudiadas absorben fósforo como fosfato en cantidades apreciables, tanto a altas como a bajas concentraciones, en el curso de 2 horas. En general, las raíces del nudo tienen una mayor capacidad de absorción a las 7 semanas que a los 5 meses, especialmente a baja concentración de fosfato. En cambio, las raíces del brote aumentan su capacidad de absorción con la edad, siendo espectacular el caso de las secundarias finas y cortas, cuya capacidad de absorción llega a ser 145 veces mayor a  $10^{-5} M$  y 39,5 a  $10^{-2} M$  (calculado de Cuadros 3 y 4). Estos hechos coinciden con el concepto aceptado que existe una trans-

Cuadro 2.—Características de los distintos tipos de raíces de caña planta a los 5 meses de la siembra. Los números que denominan los distintos tipos de raíces según leyenda de Fig 2.

Tipo de Raíz	Díámetro mm	Peso seco mg/planta	Superficie $cm^2$ /planta	% del peso total	% de la sup total
1	1,50	843	177,2	36,0	11,7
2 nudo	0,28	110	198,1	4,7	13,1
3	0,32	969	995,3	41,4	65,8
4	2,98	304	37,8	13,0	2,5
5 brote	0,37	56	97,1	2,4	6,4
6	3,70	56	6,0	2,4	0,4

Cuadro 4.—Fósforo absorbido por raíces aisladas de caña de azúcar de 5 meses a distintas concentraciones de fosfato. Período de absorción: 2 horas.

Factor de concentración indica absorción a  $10^{-2}M$ /absorción a  $10^{-5}M$ . Los números que denominan los distintos tipos de raíces según Fig. 2.

Tipo de Raíz	Fósforo absorbido		Factor de Concentración
	$10^{-2} M$ $\mu$ moles/g seco	$10^{-5} M$ $n$ moles/g seco	
1	16,0	5-4,4	311
2	58,5	306	190
3	58,5	216	270
4	93,9	419	224
5	828	29-17	281
6	75,1	2704	277

ferencia gradual de funciones de las raíces del nudo a las del brote en la caña planta (3, 8). Sin embargo, en todos los tipos de raíces el factor de concentración (absorción a  $10^{-2} M$ / absorción a  $10^{-5} M$ ) también aumenta con la edad, para todas las raíces en general. Es posible que ese parámetro indique una mayor con-

tribución de un componente pasivo del proceso de absorción (7), lo cual podría tomarse como un indicio de decadencia en las raíces del nudo (puesto que también disminuyen su capacidad de absorción a baja concentración), pero resulta inconcluyente para las raíces del brote.

La mayor capacidad de absorción de las raíces del brote a los 5 meses se refleja en un más elevado factor de aporte, que alcanza un valor de hasta 12,5 en las raíces secundarias finas y cortas (base peso seco) y 52,8 para las secundarias engrosadas cortas (base superficie). En general, los valores del factor de aporte sobre las bases del peso seco o la superficie difieren entre sí, pero presentan una unidad general en las tendencias.

Estos hechos permiten confirmar en forma cuantitativa el concepto ya mencionado de transferencia de funciones de las raíces del nudo a las del brote. Por otra parte, dada la distinta capacidad de ambos sistemas radicales para absorber fosfato, y la forma en que esta capacidad varía con la edad, podrían hallarse casos en que una diferente proporción de raíces del brote y del nudo determinase, por ejemplo, el comportamiento frente al fertilizante. Así Wann (9) y Oakes (5) en Taiwan e Islas Vírgenes respectivamente, determinan que la caña planta no responde a la fertilización fosforada, mientras que las socas lo hacen. En Tucumán (Argentina) se ha determinado un comportamiento similar con respecto a la fertilización nitrogenada (2, 6). Es posible que la incidencia relativa de los distintos sistemas radicales de la caña planta sea responsable de ese comportamiento. Su modificación por métodos agro-técnicos podría abrir una alternativa de interés agrícola.

Cuadro 5.—Factor de aporte (% de lo absorbido por esas raíces dentro del sistema radical total/% de su peso seco o superficie) de los distintos tipos de raíz de caña planta a las 7 semanas y 5 meses de la siembra, en estudios de absorción de fósforo a distintas concentraciones de fosfato.

Tipo de Raíz	7 semanas				5 meses			
	peso		superficie		peso		superficie	
	$10^{-5}M$	$10^{-2}M$	$10^{-5}M$	$10^{-2}M$	$10^{-5}M$	$10^{-2}M$	$10^{-5}M$	$10^{-2}M$
Primarias del nudo	1,15	1,10	1,59	1,53	0,16	0,24	0,50	0,74
Secundarias finas y cortas del nudo	2,46	1,33	0,73	0,40	0,97	0,89	0,35	0,32
Sec y Terc finas largas del nudo	casi inexistentes				0,69	0,88	0,43	0,55
Primarias del brote	0,73	0,92	1,00	1,25	1,35	1,42	7,00	7,40
Secundarias finas cortas del brote	1,03	0,82	0,32	0,25	9,5	12,5	3,48	4,59
Secundarias engrosadas cortas, brote	casi inexistentes				8,61	1,14	52,8	7,00

*Resumen*

Se estudiaron las características y capacidad de absorción de las raíces de caña planta a las 7 semanas y 5 meses de la siembra. Con el tiempo las raíces del brote aumentan su capacidad de absorción, especialmente a bajas concentraciones, e igualmente aumenta su aporte relativo en la absorción total, por encima del aumento en su volumen físico. Se confirma así la transferencia de funciones del sistema radical del nudo al del brote, y se sugieren implicancias de carácter agrícola.

*Literatura citada*

- 1 DILLEWIJN, C. van. Botany of sugar cane. Waltham, Mass., Chronica Botanica, 1952. 371 p.
- 2 FOGLIATA, F. A. El diagnóstico foliar como guía para la fertilización de la caña de azúcar en Tucumán. Revista Agronómica del Noroeste Argentino 7 (1-2): 227-1970.
- 3 HUMBERT, R. P. The growing of sugar cane. Amsterdam, Elsevier, 1953.
- 4 METCALFE, C. R. Anatomy of the Monocotyledons. Oxford, Clarendon Press, 1960.
- 5 OAKES, A. J. Sugarcane fertilizer trials in the U.S.A. Virgin Islands Sugar y Azúcar 6-1 (1): 28-31. 1969.
- 6 REICHART, M. A. L. El suelo en el cultivo de la caña de azúcar. Revista Agronómica del Noroeste Argentino 7 (1-2): 109-141. 1970.
- 7 RESNIK, M. E. Absorption, translocation and interactions of potassium and calcium in barley and bushbean plants. PhD Dissertation, University of California (Los Angeles), 1963.
- 8 ROCHECOUSTE, E. Weed control in sugar cane. Reduit, Mauritius Sugar Industry Research Institute, 1967.
- 9 WANN, S. S. Experiments on application rates of the three major elements of fertilizer for the new sugar cane varieties 'F 146' y 'F 148'. Fertilité 37: 3-13. 1970.

## Comunicaciones

### Changes in the respiratory quotient of embryos of *Coffea canephora* 'S.274' with time

**Sumario.** El aumento del cociente respiratorio (RQ) observado linealmente con tiempo en los embriones de *Coffea canephora* 'S.274' ha sido explicado como debido a que el material puede respirar con intermediarios del ciclo del ácido tricloroacético (TCA), de bajo a altamente oxidado, en una manera secuencial.

The high respiratory quotient we reported earlier in coffee embryos was related to the involvement of TCA cycle intermediates as substrates of respiration (5). It is widely agreed that Krebs' cycle acids do not occur in any tissue in sufficient quantities to substantiate respiratory activity for prolonged periods (3). Nutritionally dependent organs such as coffee embryos should be excellent material for studying the respiratory quotient over a period of time when the TCA cycle intermediates on which they respire start dwindling. The present study concerns this aspect.

The fruits of *Coffea canephora* 'S.274' were collected about seven months after anthesis. Embryos were collected and respiratory activity measured, as described previously by the authors (5).

The RQ values were recorded continuously for a period of 6 hours. Both the observed and estimated values by the least squares method are given (Table 1). The RQ value increased linearly from 1.2427 (0.5 hrs) to 1.4989 (6 hrs), instead of remaining more or less constant (Table 1, Fig. 1). This linear increase of RQ with time is interesting as well as intriguing.

Respiratory quotients have not been studied with time in any plant material except for cambial tissues and germinating seeds. The RQ in cambial tissues (1) and of nine out of ten species which Stiles and Leach (4) examined, showed a decrease with time. Germinating seeds of *Fagopyrum esculentum* and peas, on the other hand, registered an increase of RQ with time (2, 4). In peas, it increased from 2.0 to 3.0 in 6 hours (2). The increasing trend of RQ observed in this study agrees with those reported for peas and *Fagopyrum esculentum*. This is probably the first study

Table 1—Changes in the RQ values of embryos of *C. canephora* S.274 with time (Mean of 4 replications).

Time in Hours	RQ Observed	RQ Estimated
0.5	1.2427 ± 0.0753	1.24249
1.0	1.2751 ± 0.0471	1.26439
2.0	1.2979 ± 0.0598	1.30819
3.0	1.3807 ± 0.0291	1.35199
3.5	1.3148 ± 0.0191	1.37389
4.0	1.4174 ± 0.0258	1.39579
4.5	1.4238 ± 0.0802	1.41769
5.0	1.4430 ± 0.0390	1.43959
5.5	1.4726 ± 0.0148	1.46149
6.0	1.4989 ± 0.0416	1.48339

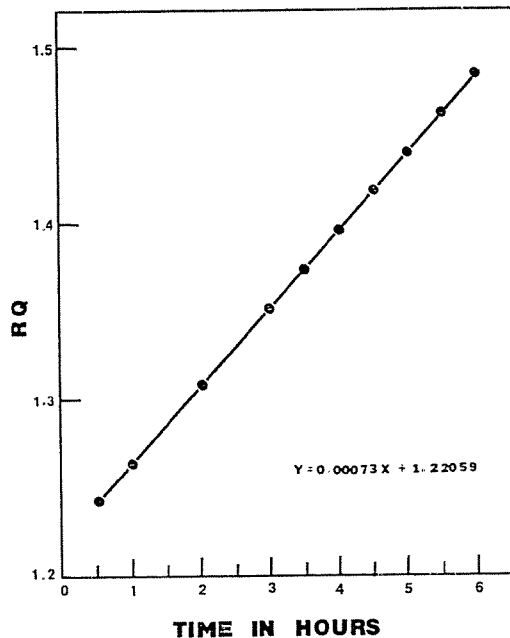


Fig. 1—Respiratory quotient as a function of time in the embryos of *C. canephora* S. 274.

using embryos as an experimental material reporting such a linearly increasing RQ.

In germinating seeds, the changes in RQ have been broadly explained by Stiles (3) as due to different substrates that the tissue oxidizes from time to time. Recently, the intermediates of Krebs' cycle have been pinpointed as the possible agents which bring about high RQ in the embryos of several types of coffee plants studied, including *C. canephora* S. 274 (5). In view of this work, it is thought that the coffee embryos might sequentially respire upon substrates with lower to higher degrees of oxidation. In the early stages of respiration, substrates like pyruvate, which give an RQ of 1.2, might be oxidized. Substrates like malate and oxaloacetate or a mixture of similar acids might be metabolized, at stages of respiration when RQ values touch 1.4 or more. If a situation akin to this operates in embryos, then the observed linear increase in RQ values is explained. It is premature to draw such conclusions, however, until information on mitochondrial oxidation of exogenously added substrates and blockage of specific steps of Krebs' cycle using inhibitors are available, to elucidate the real metabolic status of embryo respiration. Work along these lines would produce extremely fruitful results.

### Summary

The linear increase of RQ with time in embryos of *Coffea canephora* 'S. 274' has been explained on the grounds that the material might respire on low to highly oxidized TCA cycle intermediates in a sequential fashion.

11 November, 1976.

G. SUDHAKARA RAO\*  
D. VENKATARAMANAN\*\*  
K. N. RAO\*

\* Department of Biology  
D. G. Vaishnav College  
Madras-600029, India.

\*\* Department of Plant Physiology  
Central Coffee Research Institute  
CRS Post, Karnataka-577117, India.

### REFERENCES

1. RUHLAND, W. and ULLRICH, H. Aerobe Gärung in wach sendern pflanzengeweiben. Ber. sach. Akad. Wiss., Math-Phys. K 1. 88: 11-20. 1936. (Original not seen).
2. SPRAGG, S. P. and YEMM, E. W. Respiratory metabolism and the changes of glutathione and ascorbic acid in germinating peas. Journal of Experimental Botany. 10: 409-425. 1959.
3. STILES, W. Respiration in seed germination and seedling development. In: Ruhland, W., ed. Encyclopedia of Plant Physiology. Springer-Verlag, Berlin, 1960. Vol. XII-2. pp. 465-492.
4. ——— and LEACH, W. Researches on Plant Respiration. II. Variations in the respiratory quotient during germination of seeds with different food reserves. Proceedings of the Royal Society, London. Series B. 113: 405-428. 1933.
5. SUDHAKARA RAO, G., VENKATARAMANAN, D. and RAO, K. N. Respiration in the mature embryos of coffee. Turrialba 27: 199-201. 1977.

## Estudo do potencial de sorgo (*Sorghum bicolor*) granífero sob condições do meio São Francisco

**Abstract.** Commercial hybrid sorghum were evaluated for grain production at Mandacaru Experimental Station, Juazeiro-Bahia. The varieties 'Icapal' and 'Serena' were included in the trial as control.

The planting was performed in a ridge-furrow system with two rows spaced of 40 cm apart in the center part of a 70 cm ridge, with approximately 15 plants per meter in each row.

The results indicate the technical viability of sorghum cultivation under irrigated conditions, with an average productivity of 9313 kg/ha. The hybrids performed better than the varieties, mainly in terms of grain production and earliness.

### Introdução

O Vale irrigado do São Francisco vem sendo explorado por culturas que apresentam alta rentabilidade econômica, como cebola, melão, melancia e uva. Com a implantação de novos projetos de irrigação, a exploração desta culturas ficará limitada pelo mercado consu-

midor, que certamente não irá absorver toda a produção. Como consequência, haverá um desequilíbrio na curva de oferta e procura dos productos com uma queda inevitável nos preços. Cabe então, aos órgãos de pesquisa, estudarem e sugerirem opções e de exploração do uso da terra de maneira que o agricultor possa alcançar melhores lucros.

O sorgo apesar de ser uma cultura apropriada para para as condições de sequeiro, dado a sua tolerância à seca, poderá ser uma opção para as áreas de irrigação, pois sabe-se que atualmente vem sendo explorada economicamente em regiões do Texas (3). No Nordeste as informações existentes limitam-se quase que exclusivamente para as áreas de sequeiro. Lira *et al* (2), testando 25 híbridos em quatro locais do Nordeste, obtiveram em três locais, produções variando de 3.300 a 5.000 kg/ha. Resultados similares foram obtidos no Ceará (4) em termos da produtividade, observando-se inclusive, uma superioridade dos híbridos sobre a variedade EA-955, usada como controle.

O objetivo do presente estudo foi o de avaliar a potencialidade de híbridos comerciais sob condições de irrigação, mantendo duas das variedades, atualmente recomendadas para as condições de sequeiro do Nordeste, para fins comparativos.

#### Materiais e métodos

Avaliou-se o comportamento de 8 híbridos comerciais e duas variedades, com vistas à produção de grãos na Estação Experimental de Mandacaru, Juazeiro-Bahia (Quadro 1). O ensaio foi lançado em vertissolos profundos sob irrigação.

Quadro 1 — Identificação dos híbridos e variedades de sorgo

Identificação	Origem da Semente
AG-1001	Agrocerec
Bonanza	Nitrosin
Bravis-R	Nitrosin
AG-1000	Agrocerec
C-2106	Contibrasil
R-2010	Anderson Clayton
R-2020	Anderson Clayton
Jumbo-L	Nitrosin
Icapal (Variedade)	IPA-PE
Serena (Variedade)	IPA-PE

O plantio foi realizado em bancadas com 70 cm de largura, com duas fileiras de 6 m de comprimento espaçadas de 40 cm. O desbaste foi realizado 20 dias após o plantio, deixando-se em média, 15 plantas por metro linear em cada fileira.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com 10 tratamentos em 4 repetições. Cada parcela era constituída por 3 bancadas, sendo que os parâmetros foram medidos apenas na bancada central (2 fileiras úteis).

A irrigação foi realizada semanalmente, usando-se o sistema de infiltração em sulcos, não havendo um controle rígido da quantidade d'água usada em cada irrigação. A adubação foi feita usando-se a fórmula 120-90-30 de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O, tendo como fonte de nutrientes a uréia, o superfosfato simples e o cloreto de potássio, respectivamente. Um terço do nitrogênio foi aplicado juntamente com o fósforo e potássio em sulcos laterais as fileiras por ocasião ao plantio, sendo que os dois terços restante em cobertura após 30 dias. Foram feitas duas capinas à enxada e o combate às pragas quando julgado necessário. Não houve incidência de mosca *Contarinia sorghicola* (Coquillet) e doenças.

Foram medidos os seguintes parâmetros: produção de grãos, altura das plantas, número de dias do plantio até 50 por cento de florescimento, peso de 10 panículas, stand final, acamamento, peso dos restos de cultura e por cento de grãos no beneficiamento.

Para o acamamento, usou-se o critério de plantas tombadas no chão ou com mais de 45 graus de inclinação. As notas para acamamento foram de 1 a 10, sendo: 1) 0-10%; 2) 11-20%; 3) 21-30, etc.; 10) 91-100.

Apenas os dados de produção foram submetidos à análise de variância e as médias separadas pelo Teste de Duncan, segundo Steel and Torrie (5).

#### Resultados e discussão

Os resultados obtidos em produção de grãos (Quadro 2) demonstram uma nítida superioridade dos híbridos comerciais quando comparados as variedades em condições de irrigação. Observase pelo teste das médias que os híbridos menos produtivos, R 2020 e Jumbo-L, não diferiram estatisticamente da variedade Icapal. Isto vem demonstrar a superioridade produtiva dos híbridos que segundo Johnson *et al.* (1) numa estimativa conservadora ultrapassa 20 por cento.

A superioridade dos híbridos é atribuída ao peso das próprias panículas. Observa-se no Quadro 2, que as variedades apresentaram panículas com capacidade produtiva bem inferior aos híbridos.

As produtividades obtidas indicam grandes possibilidades de exploração do sorgo sob condições de irrigação, principalmente levando-se em conta que a cultura oferece a vantagem da obtenção da soca após cada colheita. Atualmente, o sorgo vem sendo explorado economicamente sob condições de irrigação no Texas (1) com produções de 10 a 11 t por hectare, equivalentes, portanto as obtidas.

Com relação os outros parâmetros estudados, observase que a altura foi bastante uniforme para todos os tratamentos, com exceção da variedade 'Serena' de porte



Quadro 2 — Médias dos parâmetros observados durante o ciclo da cultura de sorgo sob condições irrigadas

Tratamentos	Stand Final da Área útil	Altura (cm)	50% de floração (Dias)	Acama-mento (1-10)	% de grãos no Beneficia-mento	Peso dos Restos de Cultura (t)	Peso de 10 panículas (g)	Produção* (Kg/ha)
AG-101	146	161	52	7,0	80,0	26,0	500	10 634 a
Bonanza	137	154	50	4,3	86,2	24,0	500	10 184 a
Bravis-R	142	146	48	7,3	82,3	23,8	438	10 176 a
AG-1000	119	166	52	6,3	82,7	25,3	518	10 092 a
C-2106	149	174	52	6,0	83,5	25,7	393	9 897 ab
R-2010	162	155	50	5,8	83,5	21,4	380	9 789 ab
R-2020	122	173	53	6,5	82,9	28,5	438	8 728 bc
Jumbo-L	134	166	64	2,3	79,9	36,5	450	8 666 bc
Icapal	142	155	73	1,0	84,4	44,3	318	8,456 c
Serena	150	238	67	6,0	81,5	53,9	290	6 510 d
Média	140	169	56	5,3	82,7	30,9	425	9 313
C V								6,46%

\* Médias de produção seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 1% pelo Teste de Duncan

bastante alto, característica indesejável para colheita. Observa-se também, que os híbridos foram bem mais precoces quando comparado as duas variedades. A variedade 'Icapal' e o híbrido 'Jumbo - L.' resistiram bem aos fortes ventos ocorrido antes da colheita.

Após a retirada das panículas foi avaliado o peso dos restolhos, constando-se a superioridade das variedades. Os outros parâmetros estudados, stand final e por cento de grãos no beneficiamento, foram bem uniformes para todos os tratamentos.

Baseado nos resultados obtidos, acredita-se que em condições onde água e solo não são fatores limitantes, os híbridos oferecem grandes vantagens sobre as variedades.

#### Resumo

Avaliou-se o comportamento de híbridos comerciais de sorgo para produção de grãos, na Estação Experimental de Mandacaru, Juazeiro-Bahia. As variedades 'Icapal' e 'Serena' foram usadas como testemunhas do ensaio.

O plantio foi realizado em bancadas com 70 cm de largura, com duas fileiras espaçadas de 40 cm entre si na parte central da bancada, tendo aproximadamente 15 plantas por metro linear em cada fileira.

Os resultados indicam a viabilidade técnica do cultivo de sorgo sob condições irrigadas, com uma produtividade média de 9.313 kg/ha. Os híbridos foram bem superiores as variedades, principalmente em termos de produção de grãos e precocidade.

25 novembro 1977.

PAULO A. A. AGUIAR  
CENTRO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA  
DO TROPICO SEMI-ARIDO, EMBRAPA  
PETROLINA, PERNAMBUCO  
BRASIL

#### REFERÊNCIAS

- JOHNSON, J. W., ROSENOW, D. T., MILLER, F. R., and SHERTZ, K. F. Sorghum breeding and improvement: *In* Grain Sorghum Research in Texas 1970, Austin, 1971 pp. 46-57.
- LIRA, H. P., FARIS, M. A., LIRA, M. A. e REIS, O. V. Ensaio nacional de sorgo. Boletim do Instituto de Pesquisas Agronômicas de Pernambuco (Recife) 3: 77-85. 1976.
- ONKEN, A. B. Cultural practices for grain sorghum production. *In* Grain Sorghum Research in Texas 1970, Austin, 1971.
- RELATORIO DE PESQUISAS Convênio BNB/UFC - Programa Fricnal de Desenvolvimento da Cultura do Sorgo no Nordeste Centro de Ciências Agrárias (UFC) - Fortaleza-CE. Brasil, 1975. 51 p.
- STEELE, R. G. D., and TORRIE, J. H. Principles and procedures of statistics with special reference to the biological sciences. New York, McGraw-Hill, 1960. 481 p.

### Some naturally occurring insect pathogens in Colombia

**Sumario.** Tejidos de insectos enfermos o muertos, recogidos en campos de cultivo en Colombia, fueron examinados en el laboratorio. Cinco hongos patógenos, una bacteria y un virus, fueron identificados en insectos que atacaban a algodón, cítricos, cacao y soya.

There is increasing interest in the integrated pest control approach as a practical way to deal with pest problems in agriculture and forestry. According to

Smith and Reynolds (1), integrated pest control utilizes all suitable techniques either to reduce pest populations or to maintain them at levels below those causing economic injury. The use of pathogens is one of the techniques available to deal with damaging insect pest populations

A first step towards the development of the use of pathogens in integrated pest control systems is the identification of naturally occurring insect pathogens. Very little has been done in this area, especially in the tropics, where strengthening of crop protection methods is sorely needed. Beginning in 1971, the senior author with the assistance of others undertook a two

Table 1.—Insect pathogens isolated from insects collected in Colombia.

Pathogen	Host	Crop	Locality
<i>Fungi</i>			
<i>Aschersonia</i> sp	<i>Aleurocanthus woglomi</i> Homoptera, Aleyroididae	citrus	Villavicencio
	<i>Unaspis citri</i> Homoptera, Diaspididae		Bello
	<i>Selenaspis articulatus</i> Homoptera, Diaspididae		Bello
<i>Fusarium</i> sp	<i>Unaspis citri</i> Homoptera, Diaspididae		Villavicencio
<i>Entomophthora</i> sp	<i>Alabama argillaceae</i> Lepidoptera, Noctuidae	cotton	Sonso
	<i>Trichoplusia ni</i> Lepidoptera, Noctuidae	"	Sonso
	<i>Pseudoplusia includens</i> Lepidoptera, Noctuidae	"	Sonso
<i>Spicaria rileyi</i>	<i>Pseudoplusia includens</i> Lepidoptera, Noctuidae	"	Sonso
<i>Paecilomyces farinosus</i>	<i>Trichoplusia ni</i> Lepidoptera, Noctuidae	soybean	Palmira
<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Monalonium</i> sp Hemiptera, Miridae	cocoa	"
<i>Virus</i>			
Nuclear Polyhedrosis	<i>Trichoplusia ni</i> Lepidoptera, Noctuidae	cotton	Sonso
<i>Bacteria</i>			
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Alabama argillaceae</i> Lepidoptera, Noctuidae	"	Palmira

year survey of pathogens associated with insect pests in several areas of Colombia. The diagnosis work was done by the senior author at the University of California, Berkeley.

Sick or dead insects showing appearances of disease were field collected, placed individually in vials without preservatives and shipped to California. Initially the external surface of the insects was examined with a dissecting microscope for signs of infection or vegetative and/or reproductive structures of pathogens. If nothing was found the specimens were surface sterilized by immersing them in sodium hypochlorite (5.25%) for minute followed by three rinses in distilled water. Specimens were carefully dissected and pieces of internal tissues of the insects were examined with a compound microscope for the identification of pathogens. Other pieces of internal tissue were plated out on Sabouraud dextrose agar and Nutrient Agar. The organisms that grew were identified. The pathogens found are listed in the following table.

The pathogens reported here should be further studied in order to assess their potential as mortality factors in insect pest management programs.

#### Acknowledgements

We wish to thank Gerard M. Thomas, Staff Research Associate, University of California, Berkeley, for his assistance during the isolation and identification of pathogens.

December 9, 1977.

F. AGUDELO \*  
L. A. FALCON

\* Department of Entomological Sciences, University of California, Berkeley CA 94720 USA. Current address Dr. Agudelo: Interamerican Institute of Agricultural Sciences, IICA P. O. Box 711, Santo Domingo, Dominican Republic.

#### REFERENCE

- SMITH, R. F. and REYNOLDS, H. I. Principles, definitions and scope of integrated pest control. In Proc. FAO Symp. on Integrated Pest Control. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1966.

## Las relaciones de variables climáticas y bióticas con la dinámica de poblaciones de *Forcipomyia* spp. (Diptera, Ceratopogonidae) y la polinización del cacaotero en Bahía, Brasil.

**Abstract.** The influence of climatic variables on the midge population (*Forcipomyia* spp.) and on the natural pollination of cacao in Bahia, Brazil, was studied.

Results indicated correlations between temperature and evapotranspiration and insect populations. Heat, sunshine hours, nebulosity and water balance were correlated with natural pollinations. Heat, soil water availability, and air humidity closely interacted with *Forcipomyia* population and pollination. It was not possible to determine which of the climatic parameters is the single triggering element in the pollination process.

El conocimiento sobre ritmos naturales de poblaciones de insectos es una base para el desarrollo de programas de manejo racional de insectos útiles y dañinos. En el presente trabajo se relatan los resultados obtenidos acerca de dinámica de poblaciones de *Forcipomyia* en condiciones naturales en Bahía, Brasil, durante el período 1972-1977 en relación a su actividad en polinización (1, 2, 3,).

El objetivo de la primera parte del estudio fue determinar qué parámetro meteorológico ejercía mayor influencia sobre las poblaciones de las mosquitas *Forcipomyia* spp. y sobre la polinización natural del cacao (2). Los parámetros estudiados fueron los siguientes: temperaturas máxima, mínima y media, amplitud diaria de temperatura, humedad relativa, precipitación pluviométrica (mm), brillo solar (Nº horas sol/día), la relación precipitación/brillo solar (P/B), nubosidad (N/10), evaporación (Piche), evapotranspiración (Thorntwaite) y balance hídrico.

El objetivo de la segunda parte de este estudio fue determinar las interrelaciones entre las poblaciones de *Forcipomyia* y la floración, polinización, fertilización y fructificación del cacaotero (1).

#### Métodos

La metodología fue descrita en los trabajos que originaron la presente comunicación (1, 2, 3,). El grado de asociación entre los factores estudiados y la polinización del cacaotero fue determinado por el método de análisis de correlación simple.

#### Resultados y discusión

Los resultados indicaron correlaciones significativas entre las poblaciones de mosquitas *Forcipomyia*, la temperatura y la evapotranspiración (Cuadro 1). Los resultados también indicaron que el calor, el brillo solar, la nubosidad y el balance hídrico estaban correlacionados con la polinización natural (Cuadro 1).

Los resultados relacionados con la determinación de la fluctuación estacional de las mosquitas polinizadoras indicaron que las poblaciones fueron mayores desde mayo hasta agosto, período lluvioso con un tipo de precipitación pluviométrica adveccional en la región. Durante el resto del año las poblaciones fueron significativamente menores, pero nunca ausentes (Figura 1).

Los resultados también indicaron relaciones de proporción directa entre la disponibilidad de insectos polinizadores, floración del cacao, polinización natural, fertilización natural y producción (Cuadro 2). Estas interrelaciones permiten especular que la producción total puede ser pronosticada a partir de observaciones conjuntas de intensidad de floración e intensidad de poblaciones de mosquitas. En la práctica, sin embargo, la polinización y la entomofilia son menos utilizables en el pronóstico de cosecha debido a las dificultades en la toma de datos. Los pronósticos de cosecha de uso consagrado hasta hoy se han basado exclusivamente en mediciones de fructificación primaria.

Cuadro 1 — Coeficientes de correlación (r) entre promedios mensuales de variables climáticas, entomofilia y la polinización del cacaotero, medidas en diferentes parcelas experimentales, Ilhéus, Bahia, Brasil. 1972-1974

Parámetros Climáticos	Entomofilia			Polinización		
Temperatura máxima diaria	0,34	0,22	0,57**	0,35*	0,17	0,25
Temperatura mínima diaria	0,48*	0,21	0,61**	0,27	0,31	0,34*
Temperatura media diaria	0,30	0,23	0,61**	0,32*	0,21	0,27
Temperatura, amplitud diaria	0,22	0,04	0,13	0,23	0,21	0,01
Humedad relativa	0,14	0,31	0,17	0,09	0,22	0,43*
Precipitación pluviométrica	0,10	0,17	0,02	0,19	0,22	0,04
Brillo solar	0,08	0,09	0,33	0,40*	0,10	0,01
Precipitación/brillo solar	0,14	0,10	0,06	0,31	0,21	0,04
Nubosidad (N/10)	0,42*	0,32*	0,19	0,39*	0,28	0,21
Evaporación Piche (mm)	0,02	0,16	0,19	0,21	0,11	0,23
Evapotranspiración, Thornthwaite	0,32	0,17	0,61**	0,30	0,21	0,22
Balance hídrico	0,08	0,09	0,16	0,37*	0,06	0,16
Grados de Libertad	25	32	28	35	29	32

\* Excede en nivel de 5% de probabilidad

\*\* Excede en nivel de 1% de probabilidad

En vista de que la polinización natural y las etapas siguientes del desarrollo de la fruta del cacao son dependientes de las densidades de población de las mosquitas polinizadoras en el campo, se sugiere que la mantención de niveles de rendimiento elevado en las empresas agrícolas cacaoteras dependen de la protección de las poblaciones de mosquitas y de la optimización de sincronización entre los períodos de floración y población de *Forcipomyia* spp.

Para manejar apropiadamente los cacaotales se debe considerar el equilibrio entre el balance hídrico, el balance calórico y los integrantes bióticos del ecosistema del cacaotal como una condición indispensable de sobrevivencia de los insectos. El ambiente físico del clima y el ambiente biótico del cacaotal actúan en este caso, como una unidad integral indivisible.

Conclusiones

1. La fluctuación de poblaciones de *Forcipomyia* spp. está principalmente determinada por las manifestaciones meteorológicas de calor.
2. La abundancia de mosquitas polinizadoras está directamente relacionada con la disponibilidad de agua en el suelo, la humedad relativa y con el tipo de régimen pluvial.
3. El pico de población de las mosquitas polinizadoras ocurre en Bahía (Brasil) en el período de mayo-agosto.

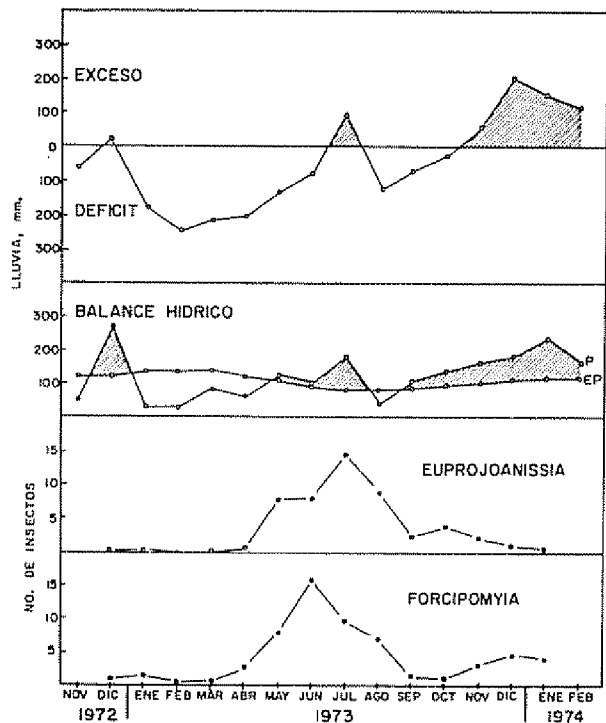


Fig. 1.—Fluctuación poblacional de *Forcipomyia* y *Euprojoanissia* con relación al balance hídrico

Cuadro 2.—Coeficientes de correlación (r) entre variables relacionadas con la polinización del cacaotero en diferentes áreas, Centro de Pesquisas do Cacau, Ilhéus, Bahía, Brasil, 1972-1974.

Variables Comparadas	Area A 1/		Area B 1/		Area C 1/		Area D 1/	
	r	G.L. 2/	r	G.L. 2/	r	G.L. 2/	r	G.L. 2/
Floración vs. entomofilia	—	—	0,22	25	0,34	30	0,47*	24
Floración vs. polinización	0,81**	34	—	—	0,73**	31	0,87**	28
Floración vs. fertilización	—	—	0,49**	26	0,52**	29	0,83**	23
Floración vs. fructificación	0,91**	19	—	—	—	—	—	—
Entomofilia vs. polinización	—	—	—	—	0,25	31	0,63**	27
Entomofilia vs. fertilización	—	—	0,37	27	0,20	29	0,69**	25
Polinización vs. fertilización	0,77**	16	—	—	0,37	29	0,08	25
Polinización vs. fructificación	0,77**	19	—	—	—	—	—	—
Fertilización vs. fructificación	0,49*	16	—	—	—	—	—	—

- 1/ Area A = Reserva Biológica  
 Area B = Comparación de Híbridos  
 Area C = Campo de producción de semillas  
 Area D = Variedad Catongo

- 2/ = Grados de libertad  
 \* = Significativo al nivel de probabilidad de 5%  
 \*\* = Significativo al nivel de probabilidad de 1%  
 — = La comparación no fue efectuada

- El tipo de régimen pluviométrico resultante de la afluencia de fríos provenientes del sur es aparentemente más favorable para la reproducción de estos insectos en la Región del Sur de Bahía.
- El calor y el agua ambientales influyen armónicamente en el fenómeno de la polinización del cacaotero, en forma única.
- La polinización del cacaotero es también dependiente de variables meteorológicas más complejas, como por ejemplo la nubosidad.
- Fue comprobada la hipótesis de la existencia de una relación de proporción directa entre las variables entomofilia, floración, polinización natural, fertilización y fructificación.
- Existiendo una relación de proporción directa entre las variables bióticas mencionadas, cualquiera de ellas puede servir de índice de estimativa para la función reproductiva del cacaotero. Una medición de floración o de fertilización pueden servir, por ejemplo, para propósitos de estimación de cosecha.
- En la práctica, la polinización y la entomofilia son menos utilizables en el pronóstico de cosecha debido a las dificultades en la toma de datos.
- La polinización y otras fases reproductivas del cacaotero son dependientes en grado significativo de

la presencia de los insectos *Forcipomyia* spp en el campo.

- El éxito de la productividad del cacaotero en el campo depende de sincronización apropiada entre los períodos de floración intensa y los períodos de mayor población de adultos *Forcipomyia* en el campo.

SAULO DE J. SORIA\*  
 CENTRO DE PESQUISAS DO CACAU  
 CAIXA POSTAL 7  
 45600 ITABUNA, BAHIA  
 BRASIL

\* División de Zoología, Centro de Pesquisas de Cacau. El autor agradece al Dr. Paulo de Tarso Alvim, Director Técnico de Ceplac, por haber autorizado la publicación de este trabajo en la Revista Turrialba, y al Dr. Basil Bartley, por haber criticado el manuscrito.

#### REFERENCIAS

- SORIA, S de J. Dinámica populacional de *Forcipomyia* spp. (Diptera, Ceratopogonidae) na Bahia, Brasil: 2.- Variáveis bióticas relacionadas com a polinização do cacauero. Revista Theobroma (Brasil) 7(1): 19-33. 1977
- . Dinámica populacional de *Forcipomyia* spp. (Diptera, Ceratopogonidae) na Bahia, Brasil: 3.- Variáveis climáticas relacionadas com a polinização do cacauero. Revista Theobroma (Brasil) 7(2): 69-84. 1977.
- e ABREU, J. M. Dinámica populacional de *Forcipomyia* spp. (Diptera, Ceratopogonidae) na Bahia, Brasil: 1.- Fluctuação estacional de polinizadores do cacauero relacionada com chuva e balanço hídrico (Thorntwaite). Revista Theobroma (Brasil) 6 (2): 47-54. 1976.

## Notas sobre la morfología, la anatomía de la testa y la fisiología de las semillas de *Enterolobium cyclocarpum*

**Abstract.** The morphology of seeds of the Guanacaste tree (*Enterolobium cyclocarpum*) is described, emphasizing the structure of the waterproof seed coat. Several seed germination tests were performed to know which treatment improve germination. Scarification of the seed coat greatly increases the fast germination of the seeds.

### Introducción

Los árboles de guanacaste o parota, *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb, son componentes frecuentes de la vegetación de las zonas tropicales húmedas y subhúmedas de baja altitud en México y América Central. Su madera es apreciada para construcciones rurales, artesanía y tiene amplias posibilidades de explotación comercial.

Entre los meses de abril y julio, estos árboles producen abundantes vainas circulares que contienen alrededor de 15 semillas cada una. Las semillas son grandes (Fig. 1) y presentan una testa extremadamente dura que impide la germinación hasta que una modificación estructural permita la hidratación del embrión.

La latencia impuesta por una testa impermeable es particularmente frecuente en la familia de las leguminosas (2, 3) que presentan esclereidas lignificadas que confieren a la testa dureza, resistencia e impermeabilidad notables. La germinación usualmente ocurre rápidamente después de la hidratación de la semilla, al alterarse la testa como consecuencia de escarificación térmica o mecánica o su degradación gradual debida a la actividad de microorganismos (1).

En este trabajo se describen algunos aspectos morfológicos generales de la semilla y se describe la anatomía de la testa impermeable; además, se presentan datos acerca de los efectos de diversos tratamientos en la promoción de la germinación, que pueden ser de utilidad para el manejo de esta especie.

### Materiales y métodos

Las semillas de guanacaste fueron colectadas en las cercanías de Villa Cardel, Veracruz, México. Se recogieron frutos maduros de cinco árboles de 20 m de altura promedio. Las semillas fueron transportadas a la Ciudad de México para su procesamiento en el laboratorio de botánica de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa.

Las cubiertas o testas de las semillas se incluyeron en parafina y se cortaron con microtomo. Los cortes se tiñeron con safranina y se fotografiaron al microscopio (Fig. 2).

Las pruebas de germinación con y sin tratamiento previo se efectuaron en una cámara de crecimiento modelo "Conviron" (de Controlled Environments) programada con un fotoperíodo de 12 horas y un termoperíodo de 28° C diurno, 22° C nocturno. Otra prue-

ba de germinación se efectuó bajo el termoperíodo de 40° C diurno, 20° C nocturno. Se utilizaron 300 semillas para cada tratamiento.

Los tratamientos previos a la siembra de las semillas fueron: escarificación consistente en seccionar un pequeño fragmento de la testa, ebullición durante 1 y 2 minutos (94° C en la Ciudad de México), sumersión en ácido sulfúrico al 50% durante una hora. Otros tratamientos similares fueron efectuados con ácido clorhídrico y nítrico sin que hubiesen dado resultados positivos en el incremento de la germinación.

Las semillas tratadas y no tratadas se sembraron en cajas de plástico acrílico, transparente, incoloro de 35 cm por 25 cm de lado y 10 cm de altura. El substrato de germinación fue agar puro al 1% en agua destilada. En la superficie del agar se colocaron 200 semillas por caja, que permanecieron en la cámara durante 30 días. El grupo testigo sin tratamiento previo permaneció en la cámara 120 días con el objeto de detectar la posible existencia de germinación intermitente.

### Resultados y discusión

Las características morfológicas generales de la semilla y la plántula se presentan en la Figura 1. Los cotiledones al hidratarse ejercen sobre la testa una considerable presión que provoca la expansión de esta, sobre todo en la región lateral; como consecuencia de ello, la semilla incrementa en longitud alrededor de 0.5 cm. Las reservas contenidas en los cotiledones son fundamentalmente proteínas y carbohidratos.

Las características anatómicas de la testa se presentan en la Figura 2. La resistencia de la testa se debe a la presencia de dos tipos de esclereidas; las más externas son alargadas, constituyendo una cubierta de células en empalizada similar a la descrita en otras especies de testa impermeable (5). La capa interna de esclereidas es más gruesa y resistente, formada por células isodiamétricas, fuertemente lignificadas. Las esclereidas son grandes y están dispuestas laxamente en la parte central, van haciéndose más pequeñas y compactas hacia la superficie interna de la testa.

Después de la hidratación la germinación ocurre rápidamente alcanzándose altos porcentajes de germinación. En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos en los diferentes tratamientos. El más eficaz para inducir una rápida germinación es la escarificación mecánica de la semilla. La ebullición también facilita la hidratación pero produce un retardo en la germinación con respecto a la escarificación. La alternancia de temperaturas de 20° de magnitud en este caso no produce un incremento de la germinación como se ha observado en otras especies (4).

La latencia impuesta por la presencia de una testa impermeable es un eficiente mecanismo de control de la germinación y mantenimiento de la viabilidad al resguardar al embrión de los efectos adversos del medio ambiente durante un período más o menos largo, hasta que se presenta la alteración estructural de la testa. Este mecanismo de latencia es particularmente frecuente en habitats en los que la lluvia presenta una distribución marcadamente estacional.

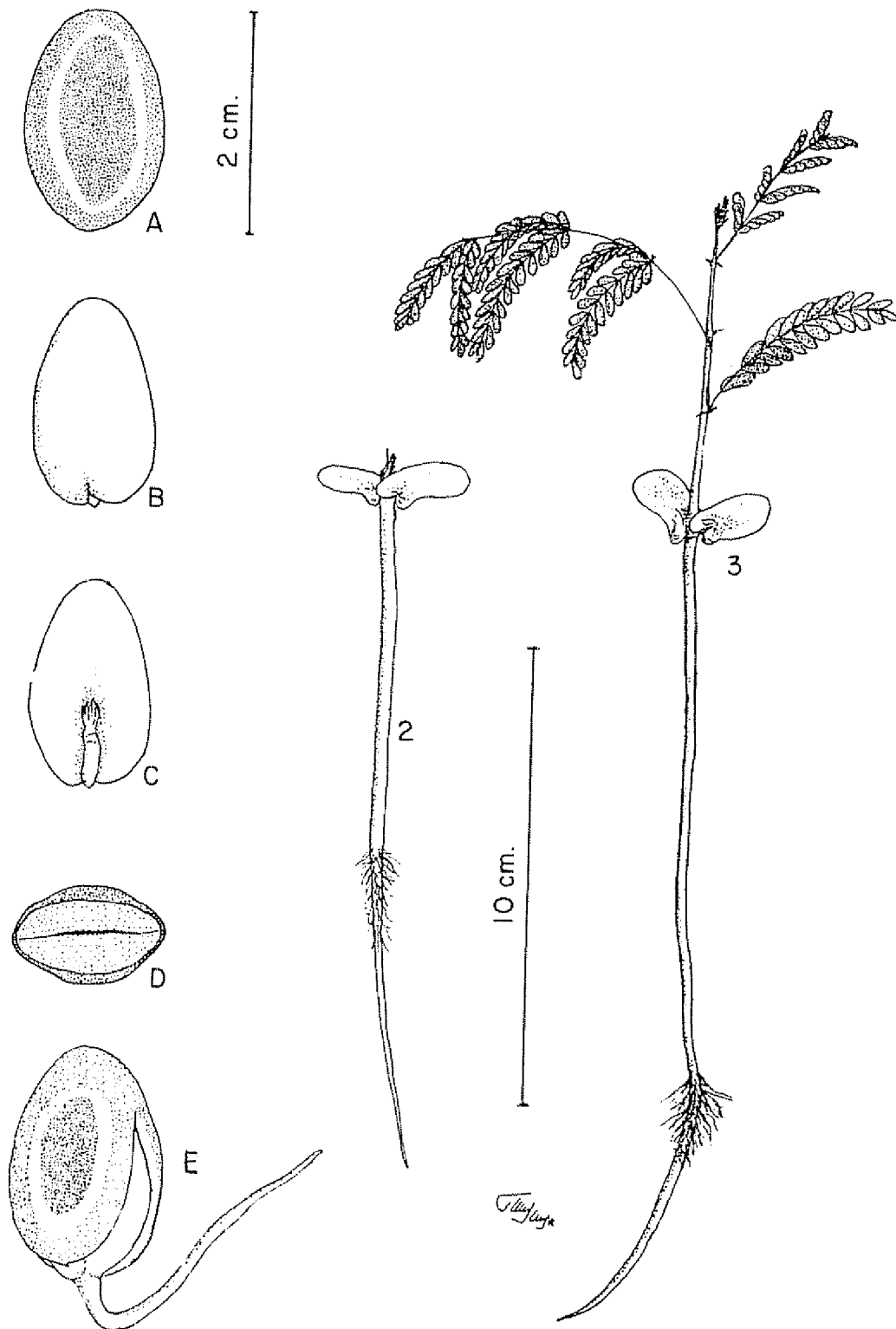


Fig. 1.—Morfología externa e interna de la semilla. A - aspecto externo de la semilla; B - semilla desprovista de la testa, se aprecian los cotiledones y la radícula, C - al desprender un cotiledón se observa el embrión; D - corte de la semilla en el que puede apreciarse el grosor de la testa y la disposición de los cotiledones. Etapas de la germinación y desarrollo de la plántula: 1 - emersión del embrión al romperse la testa; 2-3 - dos etapas del desarrollo de la plántula en las que se destaca la posición de los cotiledones y la morfología de las primeras hojas

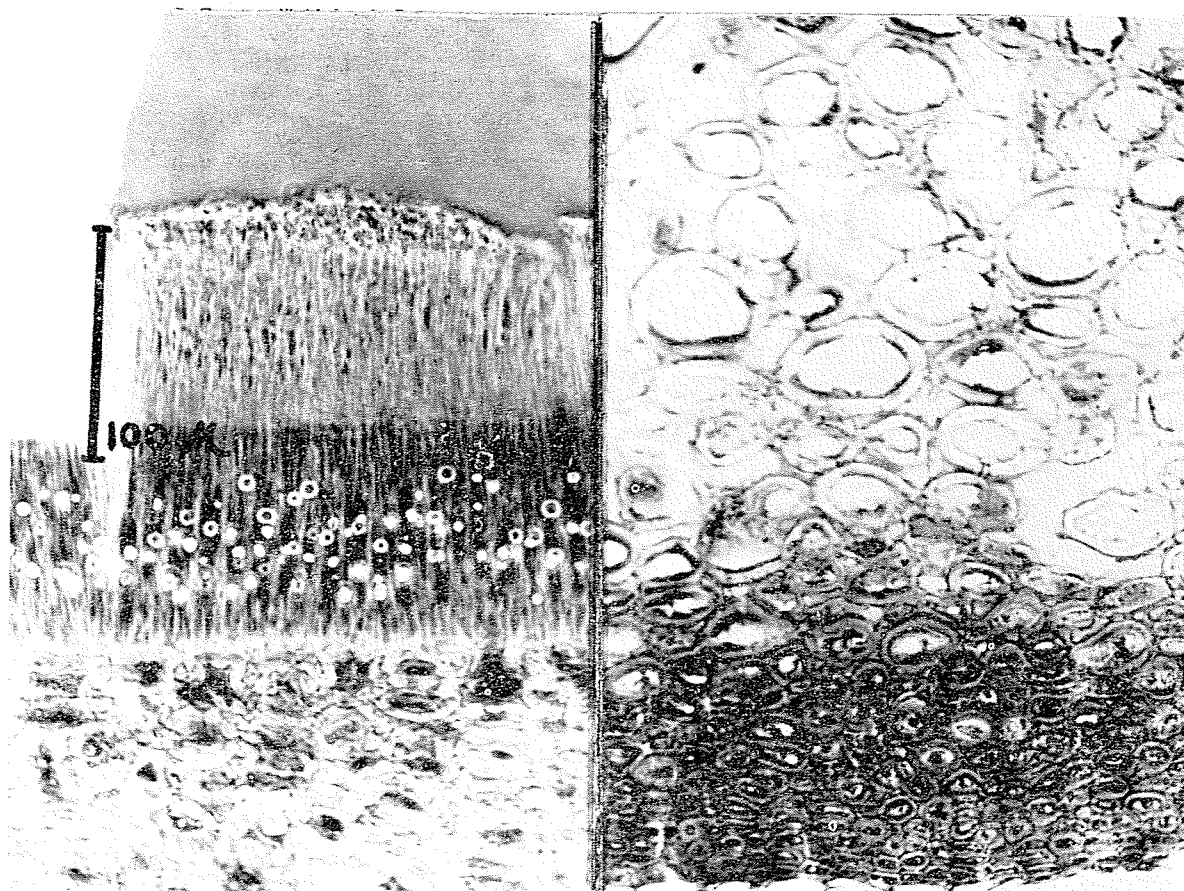


Fig. 2.—Corte de la testa, en el nivel externo a la izquierda e interno a la derecha. A la izquierda se observa la capa de esclereidas en empalizada en las que se aprecia la línea clara. A la derecha se observa la capa interna de esclereidas isodiamétricas que van reduciéndose en tamaño hacia la superficie interna de la testa.

Cuadro 1.—Resultados obtenidos en las pruebas de germinación.

Tratamiento	Por ciento de germinación final.	Días para obtener el máximo.
Escarificación	100	3
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 50%	26	9
Ebullición 1'	72	16
Ebullición 2'	8	6
Termoperíodo 20° - 40° C	2	7
Testigo	3	6

El estudio de las alteraciones que sufre la testa al quedar en contacto con el suelo permitirá entender los factores que regulan la germinación de las poblaciones de semillas de guanacaste en condiciones naturales.\*

5 de diciembre de 1977.

CARLOS VAZQUEZ-YANES  
 BLANCA PEREZ-GARCIA  
 DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
 UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA  
 UNIDAD IZTAPALAPA  
 APARTADO 55-535  
 MEXICO 13 D. F.

\* Los autores agradecen a Francisco González Dorbecker la elaboración de los dibujos.



## REFERENCIAS

1. BARTON, L. V. Dormancy in seeds imposed by the seed coat. *Encyclopaedia of Plant Physiology* 15(2): 727-745. 1965.
2. CORNER, E. J. H. The leguminous seed. *Phytomorphology* 1: 117-150. 1951.
3. FORDHAM, A. J. Germination of woody legume seeds with impermeable seed coat. *Arnoldia* 25(1): 1-8. 1965.
4. QUINLIVAN, B. J. The effect of constant and fluctuating temperatures on the permeability of the hard seeds of some legume species. *Australian Journal of Agricultural Research* 12: 1009-1022. 1961.
5. VAZQUEZ-YANES, C. y PEREZ-GARCIA, B. Notas sobre la morfología y la anatomía de la testa de las semillas de *Ochroma Lagopus* Sw. *Turrialba* 26(3): 310-311. 1976.