

TURRIALBA

REVISTA INTERAMERICANA DE CIENCIAS AGRICOLAS

VOLUMEN 45

ENERO-JUNIO 1995

NUMERO 1-2

CODEN:TURRAB 45(1-2)1-99

Estimación de la diversidad isoenzimática en dos especies de <i>Bromus</i> . <i>D. A. Aiassa, M. A. Di Renzo, M. A. Ibáñez</i>	1
Dinámica del crecimiento y producción primaria de gramínea forrajera tropical, <i>P. maximum</i> (tipo común), ante diferentes frecuencias de corte. <i>E. Chacón-Moreno, G. Sarmiento</i>	8
Intercambio gaseoso, nitrógeno foliar y optimación en el manejo de <i>Panicum maximum</i> (tipo común) sometido a diferentes frecuencias de corte. <i>E. Chacón-Moreno, F. Rada, G. Sarmiento</i>	19
Potasio: Comparación del comportamiento de diferentes métodos en suelos cultivados y sin cultivar. <i>A. M. de la Horra, M. E. Conrí, V. Sanguesa, M. Moretti</i>	27
Aplicación de la lombriz roja de California en la transformación de lodos de depuradoras urbanas. <i>M. Delgado, M. Bigeriego, I. Walter, R. Calvo</i>	33
Cambios en las propiedades humectantes de suelos sometidos a diferentes manejos. <i>A. Ellies, R. Grez, C. Ramírez</i>	42
Backcross populations for genetic analysis of <i>Theobroma cacao</i> Catongo X Tree 33 (Catongo X Pound 12). <i>Paul J. Fritz, Joseph Osei, Jorge Morera, Helga Rodríguez, David R. Walker, Jorge Laínez, Ramón Lastra</i>	49
Método Marco CEM: Procedimiento alternativo para determinar el factor de conversión de metro ruma a volumen sólido. <i>F. Milla, J. Cancino, P. Emanuelli</i>	57
Ensayos de endospermo artificial para embriones de mandarina Cleopatra (<i>Citrus reshni</i> Hort ex Tan). <i>N. Nieves, J. C. Lorenzo, M. Blanco, J. González, E. Borroto, O. Concepción, Z. Fundora, C. G. Borroto</i>	64
Fecundidad y fertilidad del predador <i>Podisus nigrispinus</i> (Dallas) (Heteróptera: Pentatomidae) en cuatro dietas artificiales. <i>J. L. D. Saavedra, J. C. Zamunio, C. S. Sedyama, T. V. Zamunio</i>	70
Caracterización de las fracciones limo y arcilla en suelos loésicos del suroeste pampeano en Argentina. <i>M. del C. Blanco, L. F. Sánchez</i>	76
Evaluation of tiazofurin antiviral effect on tomato spotted wilt virus (TSWV) in field experiments. <i>J. Caner, M. A. V. Alexandre, A. P. C. Alba, M. Vicente</i>	85
Análisis retrospectivo del uso de inoculantes con cepas elite en frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en México. <i>J. Z. Castellanos, J. J. Peña-Cabriales, I. Rojas-Martínez</i>	89



INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA

San José, Costa Rica

CR ISSN 0041 - 4360

Estimación de la diversidad isoenzimática en dos especies de *Bromus*¹

D. A. Aiassa*, M. A. Di Renzo**, M. A. Ibáñez**

ABSTRACT

This paper analyzes intra- and interpopulation variability in five natural populations of *B. auleticus* and two populations of *B. catharticus*, to obtain data for formulating strategies to be used in future collecting field trips, and in the improvement of species germ plasm. Individual electrophoretic analyses were carried out using crude leaf extract taken from 20 to 25 plantlets with four or five fully expanded leaves. Esterase and peroxidase stains showed that *B. auleticus* has a phenotypic diversity 2.8 times greater than *B. catharticus*. Total diversity within and among population of *B. auleticus* was found to be 62% and 38% respectively, whereas in *B. catharticus* diversity was roughly equivalent. In the case of *B. auleticus*, no correlation was found between geographic distance and those measured by the Hedric index ($r = -0.05$). This allows us to infer that interpopulation variability does not follow a regular geographic pattern. These preliminary results suggest that further samples of *B. auleticus* should be taken over larger distances, exploring new areas, and that it is possible to predict advances in genetic improvement advances in these species by means of simple selection schemes.

Key words: *Bromus auleticus*, *Bromus catharticus*, esterases, peroxidases.

RESUMEN

Este trabajo tiene como objetivo conocer la variabilidad isoenzimática intra- e interpoblacional en cinco poblaciones naturales de *Bromus auleticus* y dos poblaciones de *Bromus catharticus*, con la finalidad de obtener datos que orienten las estrategias futuras de recolección y el mejoramiento del germoplasma de esta especie. Los análisis electroforéticos individuales se realizaron con extracto crudo de hojas de 20 a 25 plántulas, en estado de cuatro o cinco hojas bien desplegadas. El revelado de esterases y peroxidases mostró que *B. auleticus* tiene una diversidad fenotípica 2.8 veces superior que *B. catharticus*. La distribución intra- e interpoblacional de la diversidad total en *B. auleticus* es de 62% y 38% respectivamente, mientras que en *B. catharticus* es aproximadamente equivalente. Por otra parte en *B. auleticus* no se encontró correlación entre las distancias geográficas y las calculadas con el índice de Hedrick (10) ($r = -0.05$), permitiendo inferir que la variabilidad interpoblacional no sigue un patrón geográfico regular. Estos resultados preliminares permiten sugerir que los muestreos en *B. auleticus* se deben realizar a distancias mayores explorando nuevas áreas y que, por otra parte, es posible predecir avances en el mejoramiento genético de esta especie mediante la adopción de esquemas de selección relativamente sencillos.

Palabras claves: *B. auleticus*, *B. catharticus*, esterases, peroxidases.

INTRODUCCIÓN

Uno de los recursos fundamentales de la producción pecuaria es la utilización de pasturas naturales que tienen la ventaja de encontrarse ya adaptadas (Pahlen 1975) frente a la introducción de especies foráneas. El género *Bromus* está representado en la Argentina por unas 15 especies

indígenas y 12 exóticas. Algunas de las especies introducidas son importantes como malezas; las indígenas son, en general, buenas forrajeras destacándose *B. auleticus* (Trin ex Nees) por su resistencia a sequía, bajas temperaturas y fuertes vientos, por lo que se considera una especie apropiada para regiones semiáridas y *B. catharticus* (Vahl), por su productividad en suelos fértiles y húmedos, cultivada en países templados del mundo (Cabrera 1970).

En general son escasos los datos que se tienen acerca de la variabilidad genética en especies forrajeras nativas. Esta información es necesaria para escoger las técnicas de recolección y conservación del germoplasma, así como los métodos de mejoramiento más adecuados. Las isoenzimas permiten cuantificar fácilmente la diversidad genética de las poblaciones, ya que al estar codificadas por

¹ Recibido el 17 de febrero de 1994

Este trabajo fue financiado por la Secretaría de Ciencia y Técnica, Universidad Nacional de Río Cuarto, y por el Consejo de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Córdoba (CONICOR), Arg

* Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto E.P. 9-5800, Río Cuarto, Arg.

** Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto E.P. 9-5800, Río Cuarto, Arg

alelos codominantes -cuya expresión no se halla condicionada por el ambiente- configuran fenotipos isoenzimáticos distintos, producto de genotipos diferentes. Así mediante el registro de estos marcadores altamente heredables es posible contribuir con la caracterización del material coleccionado (IBPGR 1986). El objetivo de este trabajo es conocer la estructura genética y la distribución de la diversidad en *B. auleticus* utilizando como referentes algunas poblaciones de *B. catharticus*.

Brown *et al.* (1974) al trabajar con *B. mollis* utilizaron seis alozimas para estudiar la diferenciación microgeográfica, y Brown *et al.* (1976), en la misma especie, demostraron diferencias fisiológicas entre los genotipos Adh que presentaron adaptación diferencial al ambiente. Kahler *et al.* (1981) emplearon cuatro sistemas isoenzimáticos con el objeto de identificar *B. madritensis*, *B. rubens*, *B. tectorum*, *B. diandrus* y *B. sterilis* y evidenciaron la variabilidad poblacional de estas especies. Krzakowa y Kraupe (1981), con los mismos sistemas isoenzimáticos, cuantificaron la variabilidad intra- e interpoblacional en *B. tectorum*. En *B. catharticus*, Cladera (1979) y Cladera y Pahlen (1984) realizaron estudios genéticos y poblacionales con esterasas. Ellos encontraron que las mismas tienen una estructura monomérica y están controladas por un gen con dos alelos codominantes, y que, además, las frecuencias de los patrones isoenzimáticos difieren según la estación (primavera o verano) y el año en que se realiza la recolección, no hallándose diferencias entre las distintas localidades muestreadas. En la misma especie, Morant (1988) utilizó estos marcadores bioquímicos y la pubescencia en vaina para determinar el porcentaje de cruzamientos naturales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales estudiados consistieron en cinco poblaciones naturales de *B. auleticus* provistas por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), cosechados en "bulk" en las localidades de Río Cuarto (RC), El Morro (EM), Jovita (JO), Huinca Renancó (HR) y General Cabrera (GC). Estas localidades se hallan ubicadas en la región central de Argentina, distribuidas en un área de unos 260 km de diámetro con centro en los 30° 30' de latitud sur y 64° 30' de longitud occidental.

Además, se analizaron dos poblaciones de *B. catharticus* recolectadas en dos sitios de la localidad de Río Cuarto, Banda Norte (BN) y Universidad (UN), distantes a cinco kilómetros.

Las semillas se pusieron a germinar en cajas de Petri a temperatura del ambiente, y después de siete días las plántulas fueron trasplantadas a macetas individuales y mantenidas en invernáculo. Cuando las plántulas tuvieron cuatro o cinco hojas bien desplegadas, se obtuvo el extracto crudo de la primera o segunda hoja con 0.2 ml de buffer 0.2 M tris - cítrico pH 7 y 0.3 g de PVP. Se analizaron entre 25 a 30 individuos de cada población. La electroforesis se realizó en gel de almidón al 14%, utilizando como buffer del gel 9 mM tris - cítrico pH 7 y como buffer de electrodos 0.135 M tris - cítrico pH 7. El gel se sometió a una diferencia de potencial de 300 V durante cuatro horas.

Se revelaron peroxidasas (PRX) y esterasas (EST) siguiendo las técnicas de Vallejos (1983) con algunas modificaciones (Di Renzo *et al.* 1992). Para PRX se mezcló en el momento de usar 40 mg de 3 etil 9 metil carbazol con 4 ml de NN dimetilformamida, 100 ml de buffer 0.05 M acetato de sodio pH 5.2 ml de cloruro de calcio y 0.5 ml de agua oxigenada al 3%, y el revelado se realizó a temperatura ambiente. Para revelar EST se prepararon 20 mg de α -naftil acetato disuelto en 1 ml de acetona y 1 ml de agua destilada y 20 mg de Fast Blue RR disuelto en 100 ml de buffer 0.1 M de tris-CIH pH 6 que fueron mezclados en el momento de usar, y el revelado se realizó en estufa a 37° centígrados.

Dado que se desconoce la forma de herencia de estas enzimas en *B. auleticus*, en este trabajo se utilizaron las frecuencias de los patrones isoenzimáticos. Para determinar la diversidad fenotípica intra- e interpoblacional, se usó el índice de Shannon (Ibáñez *et al.* 1993; Jain *et al.* 1975; Lewontin 1972):

$$H = - \sum_{i=1}^M p_i \log p_i$$

Donde:

p_i son las frecuencias de los patrones isoenzimáticos;
n el número de patrones diferentes.

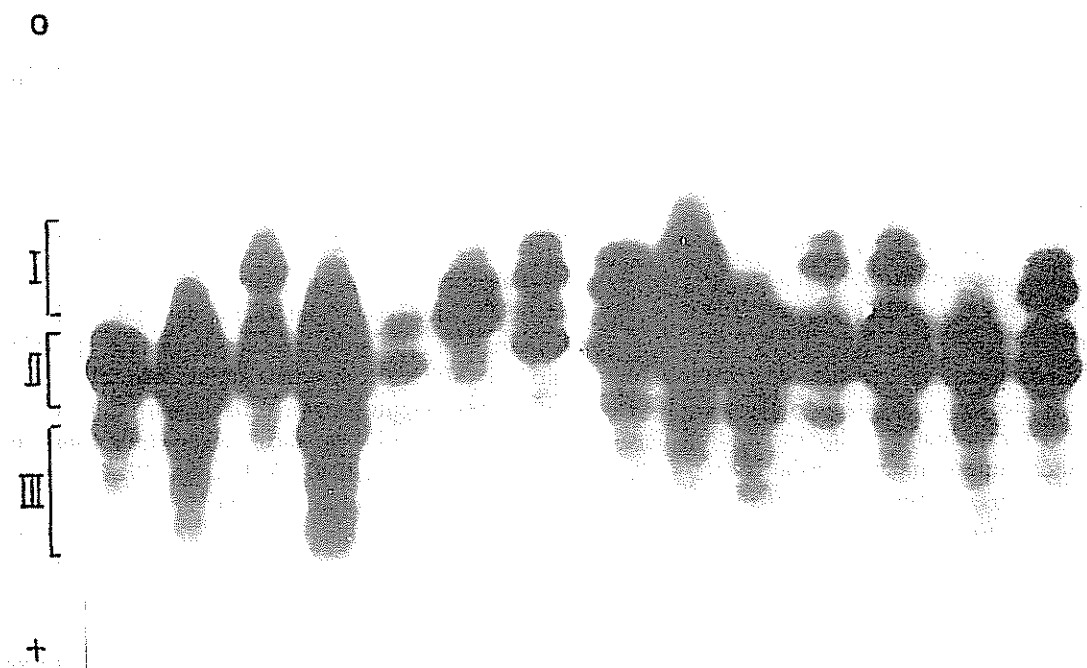


Fig. 1. Zimogramas de esterazas anódicas foliares de *B. auleticus*.

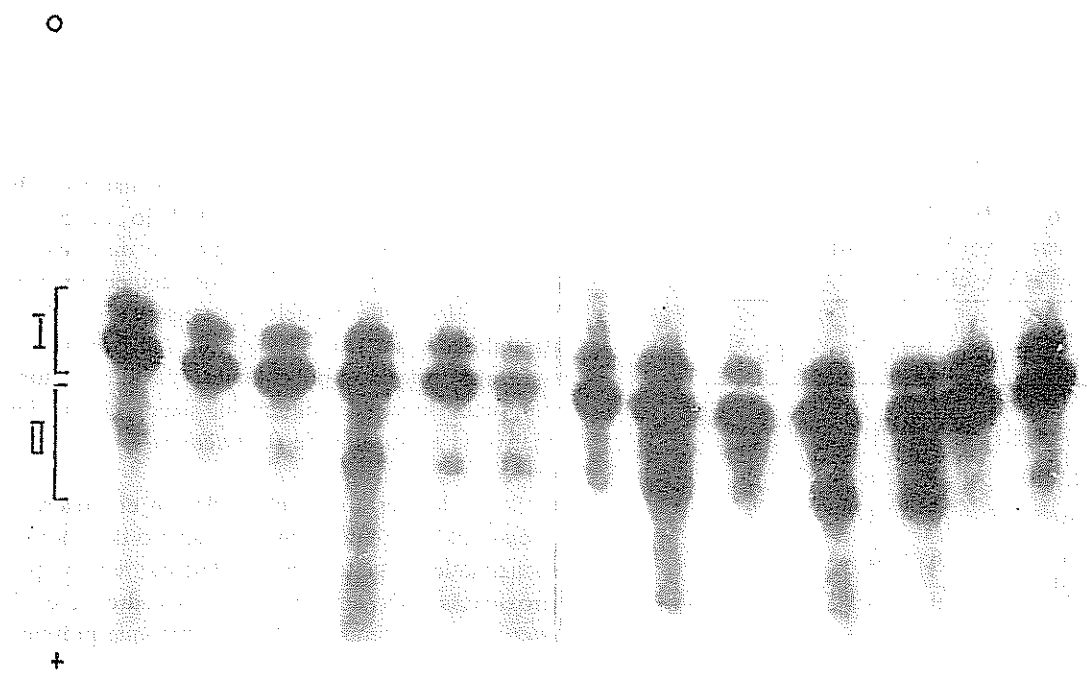


Fig. 2. Zimogramas de esterazas anódicas foliares de *B. catharticus*.

Con el índice de Hedrick (1971) (I_H), modificado para frecuencias fenotípicas, se construyó una matriz de las distancias geográficas.

RESULTADOS

Las zonas en que se dividen los patrones isoenzimáticos (Figs. 1 y 2) son grupos de bandas suficientemente separados y, en algunos casos, con características propias tales como diferencias en la coloración. Este agrupamiento permitió suponer que cada zona se halla regida por "loci" génicos distintos. Sin embargo, a partir de los polimorfismos observados, no fue posible deducir, con un grado de certeza aceptable, la forma de herencia de las bandas que componen cada zona. Considerando que los diferentes patrones isoenzimáticos de cada zona son el producto de genotipos distintos, la frecuencia de aparición de estos patrones se utilizó como dato básico para cuantificar la variabilidad genética de las poblaciones.

En las esterasas se observó actividad sólo en la región anódica donde las isoenzimas, en *B. auleticus*, se agruparon en tres zonas: EST I, II y III (Fig. 1) y se presentaron 19, 10 y 5 fenotipos isoenzimáticos diferentes para cada zona respectivamente. En *B. catharticus* se notaron dos zonas de actividad: EST I y II (Fig. 2) con dos y tres patrones distintos cada una (Cuadro 1).

Cuadro 1. Número de fenotipos isoenzimáticos encontrados en las distintas zonas de EST, aPRX y cPRX.

<i>B. auleticus</i>	EST			aPRX			cPRX	
	I	II	III	I	II	III	I	II
Poblaciones								
R C	13	10	5	13	3	6	7	3
E M	6	3	5	9	1	3	5	1
J O	5	3	1	6	1	3	4	5
H R	5	3	3	4	3	2	2	5
G C	3	1	2	4	1	2	2	3
Total	19	10	5	21	3	6	9	11

Continúa Cuadro 1.

<i>B. catharticus</i>	EST		aPRX	cPRX		
	I	II		I	II	III
Poblaciones						
B N	1	2	1	2	3	2
U N	2	1	1	1	2	1
Total	2	3	2	2	4	2

Las peroxidasas marcaron actividad en las regiones anódicas y catódicas del gel. En *B. auleticus* se diferenciaron tres zonas de actividad anódica (aPRX I, II y III) hallándose 21, 3 y 6 patrones diferentes para cada zona (Cuadro 1). Aunque la región catódica señaló tres zonas de actividad (cPRX I, II y III), la zona cPRX III no se tuvo en cuenta porque, si bien mostró diferencias entre las plantas analizadas, no se logró una definición de bandas. cPRX I y II revelaron 9 y 11 patrones diferentes.

En *B. catharticus*, las peroxidasas manifestaron la actividad de dos zonas anódicas: aPRX I, que no exhibió variantes en sus patrones isoenzimáticos, y aPRX II que evidenció dos variantes. Las isoenzimas que migran hacia el cátodo se agruparon en tres zonas: cPRX I, II y III mostrando cada una: dos, cuatro y dos fenotipos diferentes.

DISCUSIÓN

No se pueden considerar como exhaustivas las inferencias obtenidas en este trabajo aunque sí orientan respecto de las estrategias que han de adoptarse en los futuros viajes de recolección y en las actividades de manejo y conservación de la variabilidad genética. En *B. catharticus* se analizaron sólo dos poblaciones, ya que se tomó como una especie de referencia, siendo el principal objetivo la evaluación de *B. auleticus*.

Según los resultados obtenidos en el Cuadro 1, *B. auleticus* presentó el mayor número de fenotipos isoenzimáticos tanto para esterasas como para peroxidasas. De acuerdo con el Cuadro 2, en *B. auleticus*, las esterasas son las enzimas que presentan mayor índice de diversidad ($H_o = 1.07$). En general, todos los sistemas analizados se hallan cerca

del promedio ($H_o = 0.96$), lo que indica una alta repetibilidad de los resultados. En cambio en *B. catharticus* existe una mayor dispersión de los resultados; esta mayor heterogeneidad, así como el menor número de fenótipos observados (Cuadro 1), puede deberse en parte al menor número de poblaciones analizadas, pero también a la menor variabilidad de esta especie. Las peroxididas anódicas con $H_o = 0$ indican que si bien esta zona enzimática presenta dos patrones (Cuadro 1), cada uno de ellos se encuentra sólo en una de las poblaciones. Es decir que observando los patrones de esta enzima es posible identificar cada población analizada lo cual implica un proceso de diferenciación entre las mismas.

Cuadro 2. Valores de H para cada población y sistema isoenzimático en *B. auleticus* y *B. catharticus*.

<i>B. auleticus</i>				
Poblaciones	EST	aPRX	cPRX	H_o
R C	1.61	1.25	0.86	1.29
E M	1.27	0.77	0.70	0.94
J O	0.63	0.83	1.32	0.88
H R	1.18	0.87	1.10	1.04
G C	0.67	0.65	0.66	0.66
H_o	1.07	0.87	0.93	0.96
H_s	1.70	1.44	1.46	1.55
H_o/H_s	0.63	0.60	0.64	0.62
H_s-H_o/H_s	0.37	0.40	0.36	0.38

<i>B. catharticus</i>				
Poblaciones	EST	aPRX	cPRX	H_o
B N	0.32	0.00	0.69	0.45
U N	0.34	0.00	0.22	0.23
H_o	0.33	0.00	0.46	0.34
H_s	0.79	0.69	0.61	0.69
H_o/H_s	0.42	0.74	0.75	0.49
$(H_s-H_o)/H_s$	0.58	0.26	0.25	0.51

La partición de la variabilidad realizada para cada sistema enzimático en *B. auleticus* (Cuadro 2) presenta resultados muy semejantes al obtenido del análisis conjunto; cada uno de estos sistemas tienen una variabilidad intra- e interpoblacional próxima al 62% y 38%, respectivamente. Nuevamente en *B. catharticus*, los resultados se hallan más dispersos con respecto a los valores promedios.

De acuerdo con los resultados del Cuadro 2, *B. auleticus* tiene un índice de diversidad total (H_s) de 1.55 mientras que *B. catharticus* de 0.69, el que además es inferior a la mayoría de los índices de diversidad de las poblaciones individuales (H_o) de *B. auleticus*, a excepción de GC con el que no difiere significativamente. La diversidad en promedio dentro de las poblaciones de cada especie también es 2.8 veces mayor en *B. auleticus* ($H_o = 0.96$) que en *B. catharticus* ($H_o = 0.34$). Ninguna población de *B. catharticus* supera en diversidad a cualquiera de las poblaciones de *B. auleticus*.

Con los datos presentados, es posible inferir que *B. auleticus* es una especie con una variabilidad genética claramente superior a la de *B. catharticus*, diferencia que resulta coherente con las observaciones realizadas en el campo sobre caracteres morfológicos y cuantitativos. Es conocido que existe una asociación positiva entre la cantidad de fecundación cruzada y la variación genética (Hamrick 1979). *B. auleticus*, especie considerada por algunos mejoradores como eminentemente alógama, posee un porcentaje de fecundación cruzada mayor que *B. catharticus*. Esta última, con un porcentaje de alogamia de sólo 1.8% (Morant 1988), tiene un período de floración prolongado comportándose en su mayor parte como cleistógama y si florece como chasmógama lo hace sólo a principios de período.

Por otra parte se ha demostrado que las especies predominantemente alógamas mantienen altos niveles de variación intrapoblacional (Cabrera 1970; Gottlieb 1977) y, como ya se indicó, la diversidad total en *B. auleticus* se distribuyó en un 62% y un 38% adentro y entre las poblaciones, respectivamente; en *B. catharticus* la distribución intra- e interpoblacional es aproximadamente equivalente.

Esta menor diferenciación interpoblacional en *B. auleticus* se manifiesta en la imposibilidad de caracterizar algún sitio de recolección. Si bien existe

un cierto rango de diversidad entre las poblaciones, ninguna presenta un fenotipo único que la identifique; por el contrario, la mayoría de los patrones isoenzimáticos, aunque con frecuencias diferentes, se encuentran en más de una población. La falta de diferenciación interpoblacional permite suponer que la especie percibe un ambiente de grano fino (Levins y MacArthur 1966), es decir como si la región fuera homogénea.

Además en *B. auleticus*, la ausencia de correlación entre las distancias geográficas y las distancias calculadas con el índice de Hedrick (1971) (Cuadro 3) permitió inferir que la variabilidad entre las poblaciones no sigue un patrón geográfico regular. Esta falta de interdependencia causal entre ambas distancias ($r = -0.05$) puede deberse en parte a la escasa diferenciación interpoblacional (38%), y también a que los sitios cercanos, localizados unos contiguos de otros, no siguen un gradiente determinado.

Cuadro 3. Matriz de similitud según el índice de Hedrick (I_H) (superior) y distancias geográficas (inferior)

	RC	CM	JO	HR	GC
RC	0	.834	.693	.440	.676
CM	110	0	.687	.350	.666
JO	175	205	0	.341	.557
HR	210	200	60	0	.516
GC	60	195	210	255	0

Coefficiente de correlación entre ambas matrices $r = -0.05$

Ya que el material analizado es muy homogéneo, es factible deducir que no resulta conveniente aumentar la densidad de muestreo en *B. auleticus* sino que, por el contrario, se recomienda realizar muestreos más espaciados, por lo menos a intervalos mayores que la distancia en promedio que separa cada población (168 km) y ampliar el área o explorar nuevas áreas en busca de variabilidad.

Si se presupone que así como la alta variabilidad manifestada a través de estos caracteres bioquímicos -que representan una muestra aleatoria del genotipo- también existe una importante variabilidad en los genes de herencia cuantitativa y que rigen caracteres de importancia agronómica, entonces es posible

predecir avances en el mejoramiento genético de *B. auleticus* mediante la adopción de esquemas de mejoramiento relativamente sencillos. Es decir que, por lo menos, en las primeras etapas de la selección con este grado de variabilidad, podría esperarse una buena respuesta a la selección en corto tiempo y con relativamente poco esfuerzo.

LITERATURA CITADA

- BROWN, A H D ; MARSHALL, D R ; ALBRECHT, L 1974. The maintenance of alcohol dehydrogenase polymorphisms in *Bromus mollis* L. Australian Journal of Biological Sciences 27:545-559
- BROWN, A H D ; MARSHALL, D R ; MUNDAY, D 1976. Adaptedness of variants at an alcohol dehydrogenase locus in *Bromus mollis* L. (soft brome grass). Australian Journal of Biological Sciences 29:389-396
- BROWN, A H D. 1979. Enzyme polymorphism in plant population. Theoretical Population Biology 15:1-42
- CABRERA, A 1970. Flora de la Provincia de Buenos Aires II. Colección Científica del INTA.
- CLADERA, J. 1979. Polimorfismo isoenzimático y variación para la longitud de las anteras en la cebadilla (*B. unioloides* H B K.) Tesis Mag. Sc. Arg., INTA - Universidad Nacional de La Plata.
- CLADERA, J ; PAHLEN A. 1984. Genetic and population study of esterases on *B. catharticus* Vahl. Boletín Genético Instituto Fitotécnico Castelar no. 12. p. 25-30
- DI RENZO, M A ; POVERENE, M M ; MEDINA, M I 1992. Identification of lovegrass *Eragrostis curvula* cultivars by electrophoresis of seed isozymes. Seed Science and Technology (U K.) 20(1):101-11091
- GOTTLIEB, L D 1977. Electroforetic evidence and plant systematic. Annual of the Missouri Botanical Garden 65:164-180
- HAMRICK, J L 1979. Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. Annual Review of Ecology and Systematics 10:173-200
- HEDRICK, P W. 1971. A new approach to measuring genetic similarity. Evolution 25:276-280.
- IBAÑEZ, M A ; DI RENZO, M A ; POVERENE, M M 1993. Isozyme diversity among and within peach groups: Freestone, clingstone and nectarines. Scientia Horticulturae 53:281-288
- IBPGR (INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES) 1986. Annual Report 1986. Rome.

- JAIN, S.K.; QUALSET, C.O.; BHATT, G.M.; WU, K.K. 1975. Geographical patterns of phenotypic diversity in a world collection. *Crop Science* 15:700-704.
- KAHLER, A.L.; KRZAKOWA, M.; ALLARD, R.W. 1981. Isozyme phenotypes in five species of *Bromus* sect. *Botanische Jahrbücher* 102:401-409.
- KRZAKOWA, M.; KRAUPE, A. 1981. Isozyme investigation of natural populations of the cheatgrass (*Bromus tectorum* L.). *Botanische Jahrbücher* 102:393-399.
- LEVINS, R.; MACARTHUR, R. 1966. The maintenance of genetic polymorphism in spatially heterogeneous environment: Variation on a theme by Howard Levene. *American Naturalist* 100:585-589.
- LEWONTIN, R. 1972. The apportionment of human diversity. *Evolutionary Biology* 6:381-392.
- MORANT, A. 1988. Determinación del porcentaje de fecundación cruzada en cebadilla criolla (*B. catharticus* Vahl). Tesis Mag. Sc. Arg., INTA - Universidad Nacional de Rosario.
- PAHLEN, A. 1975. Evaluación y conservación de germoplasma desde el punto de vista poblacional. Universidad Nacional de Tucumán, Facultad de Agronomía y Zootecnia. *Miscelánea* no. 54 p. 51-56.
- VALLEJOS, E. 1983. Enzyme activity staining. In *Isozymes in Plant Genetic and Breeding*. A. S.D. Tanksley, T.J. Orton (Eds.). Amsterdam, Elsevier Science Publishers. p. 469-516.

Dinámica del crecimiento y producción primaria de gramínea forrajera tropical, *P. maximum* (tipo común), ante diferentes frecuencias de corte

E. Chacón-Moreno*, G. Sarmiento*

COMPENDIO

Se estudiaron la evolución de la biomasa aérea y la dinámica de producción de vástagos y hojas en plantas de *Panicum maximum* Jacq. sometidas a tres frecuencias de corte (0, 30 y 60 días) en un ecosistema de sabana estacional. Las plantas no cortadas alcanzaron mayor biomasa aérea y producción primaria, seguidas de las plantas sometidas a corte cada 60 días, y, por último, las plantas cortadas cada 30 días. La producción relativa en cambio resultó mucho más alta en las plantas con mayor frecuencia de corte. Se encontraron varios mecanismos de respuesta al corte que permiten compensar las pérdidas de biomasa aérea: a) aumento de la tasa de renovación de hojas; b) aumento del área foliar; c) utilización de nuevos asimilados en producción de tejidos asimilatorios, mientras que las de control producen órganos de sostén (tallos y vainas); y d) mayor número de vástagos juveniles con más hojas, mientras que las de control tienen mayor número de vástagos reproductivos con menos hojas. La rápida restitución del tejido asimilatorio después del corte, así como la mayor área foliar en comparación con las plantas no cortadas, permite una utilización forrajera basada en la defoliación frecuente.

Palabras clave: Gramíneas tropicales, productividad, tratamiento de corte, dinámica foliar.

ABSTRACT

Three cutting frequencies (uncut, 30 and 60 days) were imposed on the tropical grass *Panicum maximum* Jacq. in a field experiment carried out on savanna soil in the western Venezuelan llanos. The evolution of the above- and belowground biomass and the dynamics of tillers and leaves was recorded for four months. The uncut plants yielded the highest aboveground biomass and primary production, followed respectively by plants cut every 60 and 30 days. However, the aboveground plant production per unit of biomass was highest in the most frequently cut group and lowest in the control plants. Several mechanisms related to defoliation compensated the loss of aerial biomass. In cutting treatments the new assimilates were preferentially allocated to new leaves, while in the control plants most of the aboveground biomass was allocated to stems and inflorescences. The rate of leaf renewal increased after cutting. The total number of tillers was similar in the three groups of plants, but juvenile tillers predominated after cutting. Leaf area was higher in both cutting treatments. The rapid restoration of the assimilatory apparatus in tissues following cutting, and the increased leaf area as compared to uncut plants use of this species as forage when it is a continuously clipped.

Key words: Tropical grasses; productivity; cutting treatments; leaf dynamics.

INTRODUCCIÓN

El manejo de los pastizales mejorados con vistas a maximizar la productividad implica conocer el

comportamiento de sus especies frente a la defoliación periódica (corte, pastoreo) así como su respuesta a la aplicación de fertilizantes. Este tipo de investigación debe hacerse por supuesto *in situ*, en las condiciones específicas de clima y suelos en las que se están implantando estos agroecosistemas, como es el caso de la sabana tropical estacional (Sarmiento 1983).

¹ Recibido el 24 de mayo de 1993.

Se agradece a Dimas Acevedo y Lina Sarmiento por las sugerencias en la metodología y ayuda en la toma de datos; a los profesores Fermín Rada y Juan Silva por las sugerencias y apoyo en el análisis de los resultados. Asimismo a las autoridades del Jardín Botánico de la UNELLEZ, ingenieros Cecilia Gómez y Fredy Páez, así como al personal técnico, obrero y administrativo de esa institución, que facilitaron la utilización de sus instalaciones y ayudaron en el trabajo de campo. Eulogio Chacón recibió un subsidio del CONICIT para financiar su tesis de grado. Centro de Investigaciones Ecológicas de Los Andes Tropicales (CIELAT), Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes Mérida (5101), Ven.

Existe una base de conocimientos prácticos sobre manejo y productividad de pastizales tropicales (Davies y Skidmore 1966; Harvard-Duclos 1969; McIlroy 1972), de modo que, en general, al menos para las especies más difundidas, se tienen datos sobre su producción aérea bajo diferentes regímenes de uso. Desde el punto de vista ecológico es

imprescindible profundizar el análisis de los procesos subyacentes en la productividad primaria: dinámica estacional de vástagos y hojas; distribución de fotosintetizados y nutrimentos entre los diversos órganos de la planta, especialmente su repartición entre vástagos y raíces, y las influencias de la defoliación sobre el balance de agua y de carbono.

Este trabajo presenta los primeros resultados obtenidos con una de las más importantes especies de gramíneas forrajeras tropicales: *P. maximum* Jacq. (pasto guinea o gamelote), sometida a dos frecuencias de corte. Esta gramínea de origen africano es una colonizadora muy eficiente en suelos fértiles o moderadamente fértiles, bien drenados, formando comunidades casi monoespecíficas en barbechos y áreas desforestadas.

A pesar de ser uno de los aspectos esenciales de su funcionamiento y utilización pecuaria, aún no hay acuerdo entre diferentes autores sobre los procesos internos y externos que desencadena la defoliación y sobre los mecanismos que han permitido a las gramíneas adaptarse con éxito al continuo consumo por los herbívoros. McNaughton (1979, 1983a, 1983b), al trabajar con especies nativas y comunidades vegetales de las sabanas de Serengeti en Tanzania, desarrolló la hipótesis del crecimiento compensatorio. Según este autor, la planta reacciona a la defoliación con una serie de mecanismos entre los cuales se encuentra el aumento en la tasa fotosintética, el aumento en la tasa e crecimiento relativo, la mayor distribución de asimilados en las hojas y otros; de este modo la planta puede "compensar" la biomasa perdida, reponiendo rápidamente su aparato asimilatorio. Otros autores no han encontrado evidencias claras de crecimiento compensatorio (Belsky 1986).

En este primer trabajo se presentan los resultados de dinámica de la biomasa y producción que, junto con los de fotosíntesis, permitirán relacionar estos diferentes aspectos del comportamiento de las plantas para obtener algunas conclusiones sobre los mecanismos de respuesta de esta gramínea tropical frente a la defoliación periódica y la posible existencia de procesos de crecimiento o asimilación compensatorios.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de campo se desarrolló en el terreno experimental del Jardín Botánico de la Universidad Experimental de los Llanos Ezequiel Zamora (UNELLEZ) en Barinas. El régimen de precipitaciones es biestacional con una estación seca desde diciembre hasta marzo y una estación lluviosa de abril hasta noviembre.

El trabajo experimental se llevó a cabo durante la estación lluviosa y parte de la estación seca. La precipitación total en 1987 fue de 1466.5 milímetros. La temperatura en promedio anual fue de 27.1 °C con una diferencia entre la media del mes más frío y del más caliente de apenas 3.2° centígrados. La humedad relativa durante la experiencia osciló entre 70% y 80%; mientras que la evapotranspiración potencial se mantuvo entre 125 mm y 175 mm por mes. En trabajos anteriores se han descrito las características generales de los suelos y de la vegetación original de la sabana estacional (Acevedo y Sarmiento 1990; Hétiér *et al.* 1989).

En mayo y junio de 1987, se sembraron 263 plantas de *P. maximum* por medio de esquejes de 15 cm, a una densidad de una planta por metro cuadrado. Los esquejes se obtuvieron de una población local en el mismo Jardín Botánico. Se seleccionaron al azar en la parcela tres grupos de plantas para ser sometidas a diferentes tratamientos (Chacón 1989): El primer grupo (A) de plantas-testigo no sometidas al corte, el segundo grupo (B) de plantas para corte cada 30 días a 15 cm de altura y el tercer grupo (C) de plantas cortadas a la misma altura cada 60 días. Las mediciones se realizaron durante la época lluviosa y comienzos de la estación seca (agosto a diciembre). Se determinó la biomasa aérea (Ba) por el método de cosechas sucesivas, muestreando tres plantas de cada tratamiento.

En cada cosecha de biomasa aérea se separaron los diferentes vástagos de acuerdo a su tamaño y estado, en tres categorías: juveniles, adultos no reproductivos y adultos reproductivos, y se determinó el número de vástagos en cada categoría y peso de cada uno. También se contó el número de tallos, vainas foliares, inflorescencias y hojas -éstas separadas en cinco categorías: secas, senescentes, maduras, juveniles y no expandidas. Se determinó el peso seco de cada órgano y se midió el área foliar con un planímetro. El material cosechado fue secado

en estufa a una temperatura aproximada de 65 °C por un período de 48 h a 72 h, y pesado en el laboratorio.

La producción diaria aérea (Pa) fue calculada en la población de control como el incremento de biomasa ($B_1 - B_0$) durante el intervalo de tiempo del experimento ($t_1 - t_0$). En las plantas cortadas, la Pa fue calculada para cada período de crecimiento, como el incremento en biomasa entre dos eventos de corte. Ambos cálculos se realizaron usando la siguiente ecuación:

$$Pa = (B_1 - B_0) / (t_1 - t_0)$$

Para seguir la evolución de la biomasa subterránea (Bs), se tomaron muestras con cilindros plásticos de 30 cm de diámetro y 30 cm de longitud cada 45 días. La biomasa subterránea fue lavada y secada hasta peso constante. En muestreos previos se encontró que la distribución de raíces es homogénea para 1 m² (Chacón 1989).

La producción subterránea fue calculada a partir de los datos de biomasa radical y siguiendo la misma metodología descrita para la biomasa aérea.

La producción aérea relativa (Par) y subterránea relativa (Psr) fueron calculadas a través de la siguiente ecuación:

$$Par = Pa / B(t_{med})$$

donde B(t_{med}) es la biomasa de la planta en la mitad del período de crecimiento.

RESULTADOS y DISCUSIÓN

Biomasa y producción aérea

Es clara la gran diferencia entre la biomasa alcanzada por las plantas del grupo de control y las sometidas a corte (Fig. 1, Cuadro 1). En el de control, el pico máximo alcanza 2200 g por planta, mientras que en las sometidas a corte no sobrepasa 300 g y 430 g por planta en los grupos B y C, respectivamente.

Cuadro 1. Biomasa aérea, producción diaria aérea y producción aérea relativa en los tres grupos de plantas. Bi: biomasa inicial; Bf: biomasa final; Ba: biomasa total producida; Pa: producción diaria aérea; B_{med}: biomasa media del período de crecimiento; Par: producción relativa.

Período días	Bi (g)	Bf (g)	Ba (g)	Pa (g d ⁻¹)	B _{med} (g)	Par (mg g ⁻¹ d ⁻¹)
GRUPO A						
0-100	121	2 117	1 996	20.5	532	39.0
0-132	121	3 144	3 023	22.9	820	27.9
GRUPO B						
Total 0-132	121	932	811	6.1	95	67.2
GRUPO C						
Total 0-132	121	990	869	6.3	185	34.0

Nota: Las dos últimas columnas son el promedio de los períodos de crecimiento en las plantas cortadas

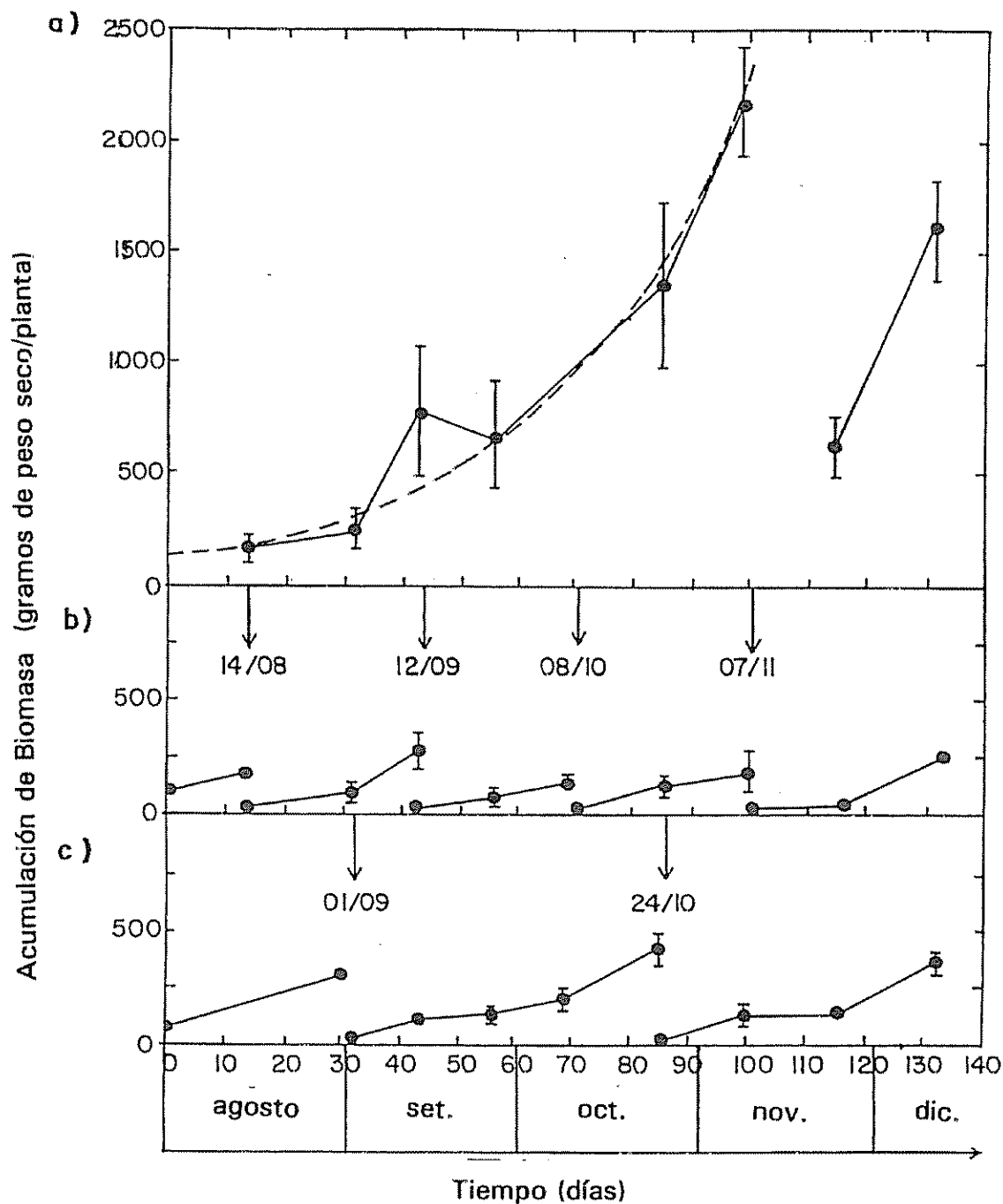


Fig. 1. Biomasa aérea en el grupo de control (a) y tratamientos de corte: cada 30 días (b) y 60 días (c). Las flechas indican las fechas de corte. Cada punto representa un muestreo de biomasa de tres plantas por grupo. En el grupo (a), una curva de regresión exponencial $y = a \cdot e^{b \cdot x}$ ($a = 121$; $b = 0.029$, y $r^2 = 0.90$), ajustada al primer período de crecimiento. Las barras indican el error estándar.

El primer período de crecimiento en el grupo de control culmina con el punto máximo de biomasa aérea, en el momento en que el 75% de los vástagos están en estado reproductivo (Fig. 4a). Este crecimiento se ajusta muy bien a una curva de crecimiento exponencial (Fig. 1a). En el segundo período de crecimiento se produce el desarrollo de nuevos vástagos que alcanzan igualmente el estado reproductivo en poco más de 30 días.

En el grupo B, sometido a corte cada 30 días, se observan cuatro períodos de crecimiento, siguientes a cada uno de los cortes, todos semejantes entre sí en su dinámica: en los primeros 15 días hay un crecimiento lento que restablece una parte de la superficie asimilatoria eliminada por el corte, permitiendo mayores tasas de crecimiento diario en los subsiguientes 15 días hasta producirse el siguiente corte (Fig 1b).

En el grupo C, sometido a corte cada 60 días, se tuvieron dos períodos de crecimiento, uno después de cada corte, con una dinámica similar al grupo B, acelerándose el crecimiento en los últimos 15 días (Fig. 1c).

La biomasa aérea total producida durante el período de experimentación en las no cortadas superó por planta los 3000 g⁻¹, siendo mucho mayor que en los grupos B y C (811 g⁻¹ y 869 g⁻¹

por planta, respectivamente, Cuadro 1). Esta diferencia entre plantas cortadas y no cortadas se debe a la eliminación por el corte de biomasa potencialmente productiva, lo cual no solamente impide una mayor acumulación, sino que también provoca una evidente disminución en la capacidad de la planta para acumular nueva biomasa.

Los valores de producción aérea relativa (Cuadro 1) indican que el corte periódico favorece el proceso productivo, es decir, hay mayor producción por unidad de biomasa. Resultados similares se describen para *Kylinga nervosa* al ser sometida a un pastoreo suave, aumentando su producción aérea (McNaughton 1979).

Biomasa y producción subterránea

En las plantas de control la producción subterránea es alta en los primeros 14 días, disminuyendo luego hasta estabilizarse en una biomasa del orden de 850 g⁻¹ por planta (Fig. 2a. Cuadro 2). Es decir, se produce gran desarrollo subterráneo cuando el crecimiento aéreo es lento, para luego estabilizarse al iniciarse la fase exponencial del crecimiento aéreo, invirtiendo los fotosintetizados en el desarrollo aéreo vegetativo y reproductivo.

En la Fig. 2b se señala la disminución de la biomasa desde el corte, cuando se tiene un valor de 845.53 g m⁻², hasta 16 días después del mismo.

Cuadro 2. Producción subterránea diaria (Ps) y relativa (Psr) en el grupo de control (A) y los dos tratamientos de corte (B cada 30 días y C cada 60 días).

Grupo y período de producción	Ps (g ⁻¹ d ⁻¹)	Psr (mg g ⁻¹ d ⁻¹)
A en 115 días desde 01/08/1987	5.29	6.41
A en 100 días desde 14/08/1987	2.47	2.94
B y C después del corte (40 días)	4.75	7.17
B y C a partir de 15 días después del corte (25 días)	18.75	24.35

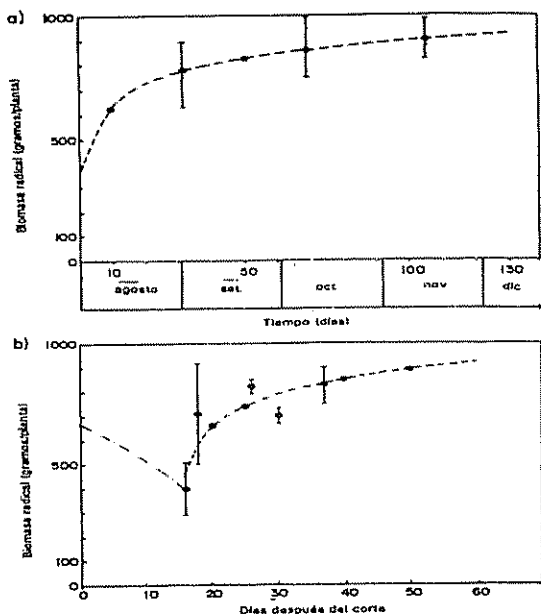


Fig. 2. Biomasa subterránea (0 - 30 cm de profundidad) en el grupo de control (a) y, en conjunto, para los tratamientos de corte (b). En cada figura se presentan curvas de regresión logarítmica $y = a + (b \cdot L^{nx})$, ajustadas a los puntos dados, a: $a = 357.9$; $b = 116.43$, y $r^2 = 0.998$; b: $a = 473.9$; $b = 116.2$ y $r^2 = 0.748$). Cada punto representa el promedio de tres plantas y las barras indican el error estándar.

de raíces. La traslocación de reservas y asimilados hacia el tejido aéreo remanente después del corte fue observada en *Bouteloua gracilis* en condiciones controladas de laboratorio, conduciendo a un aumento rápido de la biomasa foliar (Detling *et al.* 1979).

Después de 15 días, las raíces se desarrollan rápidamente con tasas productivas casi cuatro veces más altas que las encontradas en las plantas de control (Cuadro 2), reponiéndose el material movilizado hacia el tejido aéreo remanente y también las pérdidas por mortalidad (Fig. 2).

Distribución de la biomasa en órganos aéreos

En las plantas de control la biomasa caulinar es mucho mayor que la de los demás órganos,

acumulando después de 40 días más del 60% de la biomasa aérea total (Fig. 3a). La biomasa de hojas vivas sigue en importancia a la de culmos, alcanzando producción relativa máxima de $29.0 \text{ mg g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Cuadro 3). La biomasa de inflorescencias aumenta a partir de los 30 días, cuando comienza el primer período reproductivo, alcanzando el máximo al final del período de crecimiento (4% de la biomasa aérea) al comenzar la dispersión de los granos (Fig. 3a).

En el grupo B (Fig. 3b), el patrón de repartición de la biomasa aérea es muy diferente al de las plantas de La biomasa subterránea de las plantas sometidas a corte disminuye los primeros 15 días para aumentar rápidamente entre los 15 y 30 días después del corte, y así incrementar la producción subterránea, absoluta como relativa (Fig. 2b, Cuadro 2). Al cabo de 50 días la biomasa subterránea es aproximadamente igual en las plantas de control y en las cortadas ($800 \text{ g}^{-1} - 900 \text{ g}^{-1}$ por planta).

El descenso en la biomasa subterránea en los primeros 15 días después del corte sugiere la utilización inmediata de reservas de carbono y de nutrimentos acumulados en los tejidos subterráneos para reponer y producir nuevos tejidos aéreos, recuperándose así el área foliar, y posteriormente ocurre una acentuada mortalidad control. La biomasa de hojas vivas es mucho mayor que la de tallos, mientras que la biomasa reproductiva sólo es relevante al final de los dos últimos períodos de crecimiento.

La producción relativa de hojas fue también muy superior a la de la población de control.

Estos resultados señalan que el corte cada 30 días induce un aumento en la biomasa y producción de hojas. La biomasa reproductiva es afectada por el corte, ya que acelera la maduración de vástagos que aún no han alcanzado gran desarrollo, produciendo una disminución en el número de inflorescencias. Es importante señalar que la mayor parte de la biomasa corresponde a los órganos asimilatorios, que son también los de mayor utilidad forrajera.

En las plantas del grupo C, se observa una situación similar en los primeros 30 días después del corte, con respecto a la relación entre hojas vivas y tallos (Fig. 3c). Después de 30 días la biomasa

caulinar sobrepasa la de hojas vivas y la producción de tallos vuelve a ser predominante, igual que en las plantas no cortadas. Es decir, al cabo de 30 días las plantas comienzan a presentar un patrón de crecimiento similar al del grupo de control. Se observa que la producción de hojas fue mayor luego del segundo corte, lo que indica que, posiblemente, después de varios cortes aumente la producción de hojas.

Dinámica de vástagos y hojas

El número de vástagos resultó aproximadamente igual en los tres grupos de plantas, pero con una

distribución diferente por categorías (Fig. 4). En las plantas de control (A) la mayor parte de los vástagos son reproductivos (63% a los 100 días). Sin embargo a partir del primer pico de biomasa a los 100 días, se produce un aumento en el número de vástagos juveniles, sugiriendo así el inicio de un nuevo período de crecimiento.

En las plantas del grupo B, el mayor número de vástagos está en las categorías juveniles (alrededor del 50%) (Fig 4b). Los vástagos adultos vegetativos

Cuadro 3. Producción foliar diaria (Pf) y relativa (Pfr) en tres grupos de plantas: A control, B corte cada 30 días y C corte cada 60 días.

	Pf (g d ⁻¹)	Pfr (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	
A (sin corte)	4.35	29.0	
B (promedio cuatro períodos)		6.01	75
C (promedio dos períodos)	4.00	54.0	

son numéricamente importantes al final del primer período de crecimiento, es decir, con esta frecuencia de corte, los vástagos juveniles no llegan a alcanzar la categoría de adultos. A su vez, el número de vástagos reproductivos sólo es importante al final del tercer período de crecimiento a los 100 días, coincidiendo con la floración de las plantas de control, lo que indica que el corte no modifica la fenología reproductiva aunque sí altera radicalmente el esfuerzo reproductivo.

En el grupo B, un mayor número de vástagos en las categorías juveniles asegura una alta producción de hojas, así como la renovación de aquellos vástagos que no sobreviven al corte. Esta es una respuesta a la defoliación parcial en muchas gramíneas, que aumentan la proporción de asimilados dirigidos hacia la formación de rebrotes y de hojas jóvenes (Gifford y Marshall 1973; Ryle y Powell 1975).

En el grupo C, la distribución del número de vástagos es similar al grupo B, pero luego de 30 ó 40 días aumenta la proporción de vástagos reproductivos (Fig. 4c). El desarrollo reproductivo ocurre más temprano que en la población de control, con el paso rápido de vástagos juveniles a reproductivos.

En las plantas de control, durante el período de crecimiento, la mayor parte del área foliar corresponde a hojas maduras, mientras que el porcentaje de hojas juveniles y senescentes es muy bajo (Fig. 5a). Esto lleva a pensar que la tasa de renovación de hojas juveniles es igual a la tasa de senescencia, ya que el área foliar se mantiene constante durante todo el período de crecimiento. Al finalizar la primera fase de crecimiento, el área foliar es máxima; pero luego disminuye debido a la mortalidad de los vástagos que han florecido.

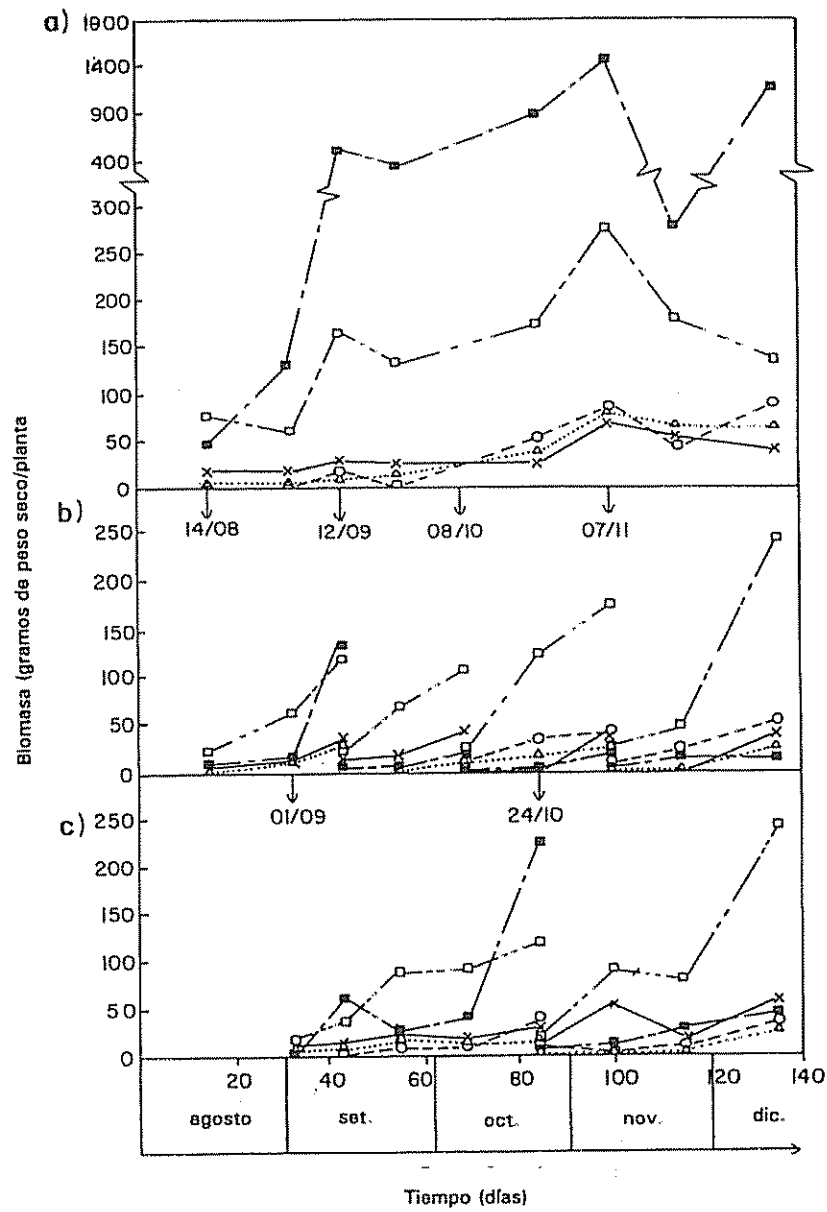


Fig. 3. Distribución de la biomasa aérea en los diferentes órganos para el grupo de control (a) y los tratamientos de corte: cada 30 días (b) y 60 días (c). Tallos (cuadrado relleno), láminas de hojas vivas (cuadrado vacío), láminas de hojas muertas (triángulo), vainas foliares (x-x) e inflorescencias (0-0). Las flechas indican las fechas de corte.

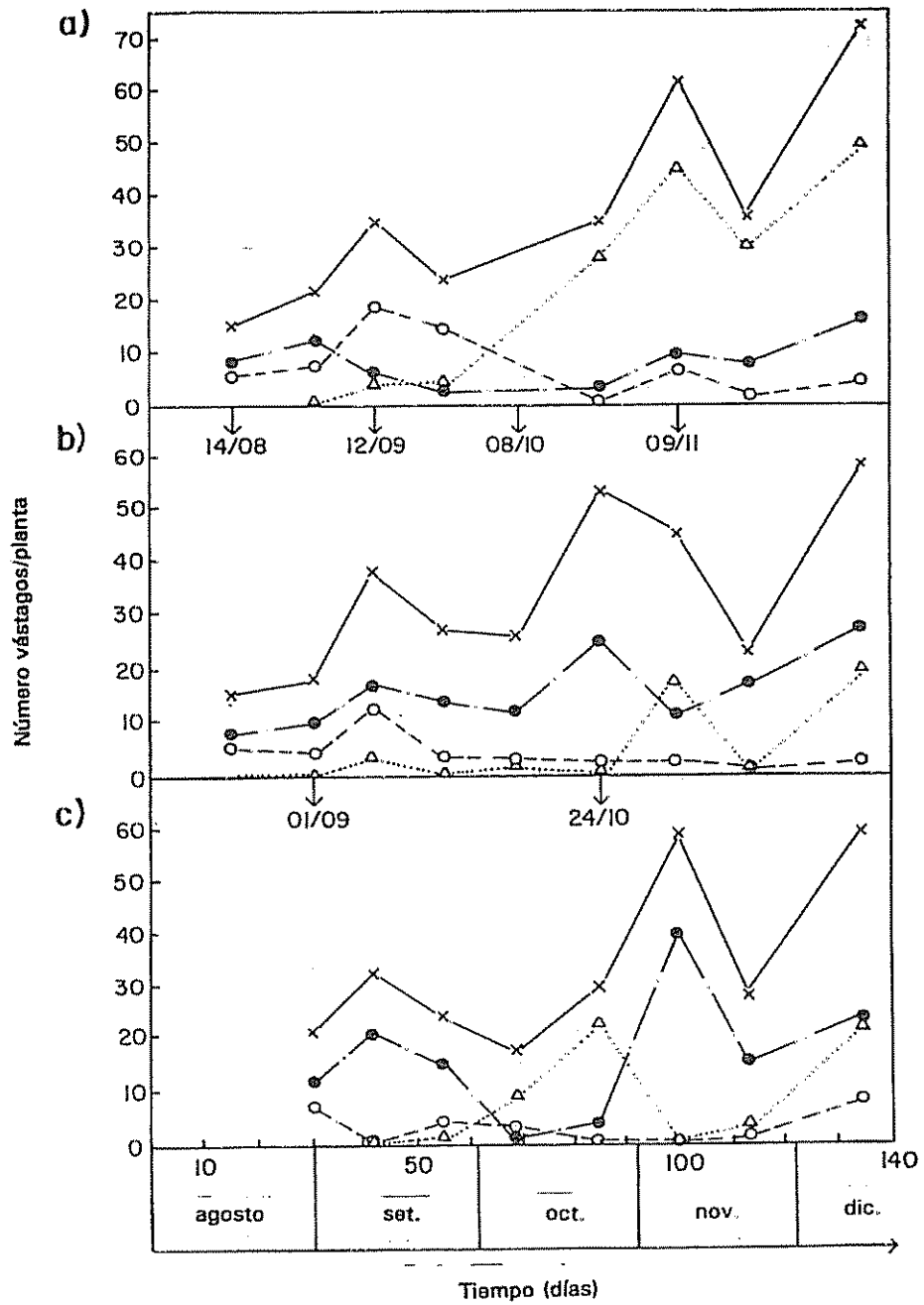


Fig. 4. Variación en el número de vástagos por planta en el grupo de control (a) y los tratamientos de corte: cada 30 días (b) y cada 60 días (c). Total de vástagos (x-x), vástagos juveniles (círculos rellenos), vástagos adultos vegetativos (0-0) y vástagos reproductivos (triángulo). Las flechas indican las fechas de corte.

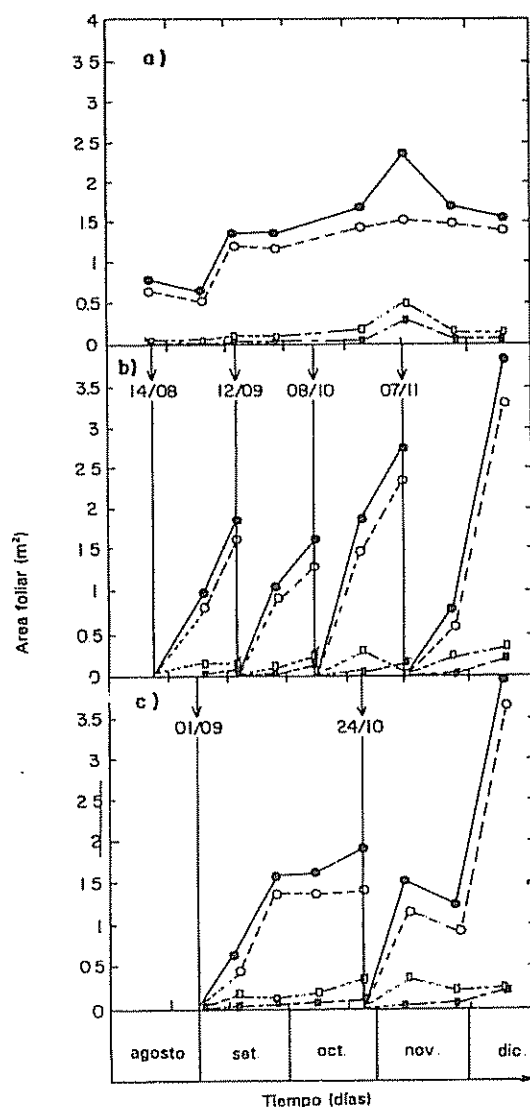


Fig. 5. Area foliar (lámina foliar) por unidad de planta del grupo de control (a) y tratamientos de corte: cada 30 días (b) y cada 60 días (c). Total (círculos rellenos), hojas maduras (0-0), hojas juveniles (cuadrado relleno) y hojas senescentes (cuadrado vacío). Las flechas indican las fechas de corte.

El grupo B alcanza a los 30 días después del corte áreas foliares relativamente altas: 1.5 a 3 m²; y, a medida que aumenta el número de cortes, también se incrementa el área foliar máxima alcanzada en el período subsiguiente hasta llegar a un pico de 3.8 metros cuadrados. El área foliar aumenta progresivamente, indicando que la tasa de renovación del tejido foliar aumenta, mientras la tasa de senescencia es similar a la del grupo de control.

En el grupo C, de comportamiento similar al B, se alcanza el área foliar máxima (4.04 m²) 45 días después del corte.

CONCLUSIONES

Las plantas no cortadas alcanzaron mayor producción aérea que las sometidas a corte. Sin embargo, la biomasa se distribuye en órganos de sostén principalmente, poco utilizables como forraje.

Las plantas sometidas a corte crecieron más por unidad de biomasa aérea, y esta producción relativa fue mayor en el grupo sometido a corte cada 30 días. Este incremento se relaciona con mayor producción de láminas foliares y, por consiguiente, con el desarrollo del área foliar mayor que en las plantas no cortadas, las que, por el contrario, distribuyen la mayor parte de sus asimilados en la producción de tallos o de inflorescencias.

De este modo, *P. maximum* sometido a corte en las frecuencias indicadas, responde a través de mecanismos que le permiten compensar la gran pérdida de biomasa aérea ocasionada por el corte.

Los principales mecanismos para compensar estas pérdidas son: a) aumento de la producción relativa de hojas; b) posible traslado de sustancias de reserva desde los órganos subterráneos hacia el tejido aéreo remanente; c) distribución de nuevos asimilados en tejidos asimilatorios, incrementando el área foliar; y d) aumento en la tasa de renovación de hojas.

Además de estos mecanismos, las plantas sometidas a corte tienen mejor calidad forrajera (Chacón 1989).

LITERATURA CITADA

- ACEVEDO, D.; SARMIENTO, G. 1990. Intercepción de la lluvia, escorrentía superficial y drenaje profundo en una pastura tropical y un cultivo de maíz en Barinas, Venezuela. *Ecotrópicos* 3:12-32.
- BELSKY, A.J. 1986. Does herbivory benefit plants?: A review of the evidence. *American Naturalist* (EE UU) 27:870-892.

- CHACON, E. 1989. Estudio de la producción primaria de una gramínea tropical bajo diferentes frecuencias de corte y su interpretación en base a la dinámica de las superficies asimilatorias. Tesis Lic Mérida, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. p 157
- DETLING, J.K.; DYER, M.I.; WIM, D.T. 1979. Net photosynthesis, root respiration and regrowth of *Bouteloua gracilis* following simulated grazing. *Oecología* 41:127-134.
- GIFFORD, R.; MARSHALL, C. 1973. Photosynthesis and assimilated distribution in *Lolium multiflorum* Lam.: Following differential tiller defoliation. *Australian Journal of Biological Sciences* 36:517-526.
- HARVARD-DUCLOS, B. 1969. Las plantas forrajeras tropicales. Barcelona, Blume
- HETIER, J.M.; SARMIENTO, G.; ALDANA, T.; ZUVIA, M.; ACEVEDO, D.; THIERY, J.M. 1989. The fate of nitrogen under maize and pasture cultivated on an alfisol in the western Llanos savannas, Venezuela. *Plant and Soil* 114:295-302.
- MCILROY, R.J. 1972. An introduction to tropical grass-land: Husbandry 2nd ed. Oxford University Press
- MCNAUGHTON, S.J. 1979. Grazing as an optimization process: Grass-ungulate relationships in the Serengeti. *American Naturalist* 113:691-703
- MCNAUGHTON, S.J. 1983a. Physiological and ecological implications of herbivory. III. *Physiological Plant Ecology* O.P. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond, H. Ziegler (Eds.) Berlin, Springer-Verlag. v. 12C, p. 657-677.
- MCNAUGHTON, S.J. 1983b. Compensatory plant growth as a response to herbivory. *Oikos* 40:329-336.
- RYLE, G.J.A.; POWELL, C. 1975. Defoliation and regrowth in the graminaceous plant: The role of current assimilate. *Annals of Botany* 39:297-310.
- SARMIENTO, G. 1983. The savannas of tropical América: Tropical savannas. F. Bourliere (Ed.) Elsevier. p. 245-288
- TROPICAL PASTURES. 1966. W. Davies, G.L. Skimore (Eds.) London, Faber and Faber.

Intercambio gaseoso, nitrógeno foliar y optimación en el manejo de *Panicum maximum* (tipo común) sometido a diferentes frecuencias de corte

E. Chacón-Moreno*, F. Rada*, G. Sarmiento*

COMPENDIO

Se realizaron mediciones de campo sobre el intercambio de gases, temperatura foliar, radiación fotosintéticamente activa, concentración de nitrógeno foliar y área foliar en hojas juveniles, maduras y senescentes de *P. maximum* Jacq. sometido a tres diferentes frecuencias de corte (0, 30 y 60 días). Se calcularon la tasa de asimilación diaria, la producción diaria por planta y la concentración de nitrógeno foliar para los dos tratamientos de corte y el control. Las hojas maduras obtuvieron mayores tasas fotosintéticas a intensidades de luz superiores a los $1600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y representan más del 80% del área foliar. Como resultado, el 88% de la asimilación total de CO_2 se realiza a través de este tipo de hoja. Las hojas de las plantas con menor tiempo transcurrido después del corte presentaron mayores tasas asimilativas que las hojas de plantas con mayor tiempo transcurrido después del corte y que las plantas de control. La temperatura óptima para la fotosíntesis es de alrededor de 34° centígrados. Existe una mayor eficacia en el uso de agua en los primeros días después del corte y la concentración de nitrógeno aumenta considerablemente inmediatamente después del mismo. Se concluye que *P. maximum* responde a los efectos del corte a través de los mecanismos que compensan las pérdidas de biomasa, los que además se encuentran interrelacionados. Finalmente, la frecuencia óptima de corte para la obtención de una mayor producción con alto valor de biomasa foliar es de alrededor de 30 días.

Palabras clave: Gramíneas tropicales, *P. maximum*, intercambio de gases, tratamientos de corte, nitrógeno foliar, crecimiento compensatorio.

ABSTRACT

Gas exchange, leaf temperature, photosynthetically active radiation, leaf nitrogen concentration and leaf area were measured in the field in young, mature and senescent leaves of *P. maximum* Jacq. at three different cutting frequencies (0, 30 and 60 days). Daily assimilation rates and plant production, and leaf nitrogen concentration for both treatments and control plants were calculated. Mature leaves showed the highest photosynthetic rates at light intensities greater than $1600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and represented 80% of the leaf area. As a result, 88% of the total CO_2 assimilated was carried out by these leaves. The leaves of those plants with a shorter period of time after clipping presented higher assimilation rates than those with a greater time period and the control plants. The optimum temperature for photosynthesis was 34°C . There was a greater water use efficacy the first few days after clipping. The nitrogen concentration greatly increased immediately after clipping. It is concluded that *P. maximum* responds to the cutting effects through mechanisms which compensate biomass loss and which are also interrelated. We suggest that the optimum cutting frequency to obtain a greater production with a high value of leaf biomass is approximately at 30 days regrowth.

Key words: Tropical grasses, *P. maximum*, gas exchange, cutting treatments, leaf nitrogen, compensatory growth.

INTRODUCCIÓN

Dentro del estudio de la relación entre planta y animal, es interesante la respuesta de las gramíneas al pastoreo o corte. En el artículo anterior, Chacón-

Moreno y Sarmiento (1995) presentaron resultados sobre la producción primaria y dinámica del crecimiento de la biomasa aérea de *P. maximum* Jacq. sometida a tres frecuencias de corte. Se encontraron algunos mecanismos de crecimiento compensatorio similares a los descritos por McNaughton (1979, 1983a, 1983b).

En este trabajo se presentan los resultados de intercambio gaseoso y contenido de nitrógeno foliar, así como conclusiones sobre el manejo óptimo de esta especie bajo corte en condiciones ambientales del ecosistema de sabana estacional (Sarmiento mecanismos implicados en el crecimiento compensatorio (McNaughton 1979, 1983a y 1983b; Wallace *et al.* 1984, 1985).

* Recibido el 24 de mayo de 1993.

Se agradece a la Dra. Aura Azócar por sus observaciones; al M.Sc. Miguel Montilla por los análisis químicos y al Sr. Luis Nieto por la toma de datos. Asimismo a los directivos del Jardín Botánico de la UNELLEZ, ingenieros Cecilia Gómez y Freddy Pérez, así como al personal técnico, obrero y administrativo de esa institución, que facilitaron la utilización de sus instalaciones y ayudaron en el trabajo de campo. Eulogio Chacón recibió un subsidio del CONICIT para financiar su tesis de grado.

* Centro de Investigaciones Ecológicas de los Andes Tropicales (CIELAT), Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida (5101), Ven.

El enfoque es ecológico y se relacionan los resultados prácticos con los procesos fisiológicos y adaptables que expliquen el comportamiento de la planta a la defoliación periódica. Así, se asegura una comprensión profunda de la forrajera considerada, para lograr un mejor manejo en el ecosistema considerado.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en una parcela de campo sembrada con 263 plantas de *P. maximum* con una densidad de 1 m², donde se seleccionaron tres grupos de plantas para seguir tratamientos de corte cada 30 días (grupo B), cada 60 días (grupo C) y en plantas de control no cortadas (grupo A) (Chacón-Moreno y Sarmiento 1995). Las condiciones climáticas, características del suelo y vegetación, así como las fechas de corte son descritas en Chacón (1989), Chacón-Moreno y Sarmiento (1995), Acevedo y Sarmiento (1990) y Hétiér *et al.* (1989).

Se midieron las tasas de intercambio gaseoso, en diferentes tipos de hojas con buena exposición al sol, de tres plantas por cada grupo o tratamiento en dos ciclos o fechas de medición. Los dos ciclos de mediciones correspondieron con plantas cortadas a los 11, 12, 23 y 27 días, y a los 119 y 160 días después de sembradas en las plantas de control. Las mediciones se realizaron a intervalos de una hora, entre las 9 y 15 horas, a diferentes intensidades naturales de luz.

La asimilación de CO₂, la conductancia foliar y la transpiración, la temperatura, la humedad relativa y la radiación fotosintéticamente activa (RFA), se midieron con un sistema portátil y un analizador de gases infrarrojo. Las tasas de intercambio de gases fueron calculadas utilizando las ecuaciones obtenidas de von Caemmerer y Farquhar (1981). Las hojas fueron clasificadas en tres tipos: a) senescentes, b) maduras y c) juveniles. Las características de estas hojas fueron descritas por Chacón (1989).

Utilizando los valores máximos de asimilación, se produjo la curva de respuesta de la asimilación en función de la temperatura foliar.

Con los datos puntuales de intercambio gaseoso, obtenidos para cada tipo de hoja en un ciclo diario, se sacó el promedio de asimilación para un

determinado período de tiempo y se calculó la asimilación diaria a través de la siguiente ecuación:

$$\text{Asimilación diaria} = \sum_i (F_n \times T_n)$$

donde:

F_n es la tasa fotosintética para un período n de tiempo;

T_n es la cantidad de tiempo entre cada medición puntual.

El área de las hojas se midió con un planímetro y se tomó en consideración el área foliar y los datos de biomasa aérea reportados por Chacón-Moreno y Sarmiento (1995) para calcular el área foliar de la biomasa cosechada.

Combinando las tasas de asimilación diaria, el área foliar y la contribución de cada tipo de hoja en cada tratamiento, se calculó la tasa de asimilación diaria de CO₂ m⁻², según la siguiente ecuación:

$$A = \sum AD_p(i) \times p(i) \times PM_{CO_2}$$

donde:

A es la tasa de asimilación diaria de CO₂ (gCO₂ m⁻² d⁻¹),

AD_p es la tasa asimilatoria por planta para cada tipo de hoja (i)(mol CO₂ m⁻² d⁻¹),

p(i) es la contribución porcentual de cada tipo de hoja,

PM CO₂ es el peso molecular del dióxido de carbono.

A partir de las submuestras de la cosecha de biomasa aérea (Chacón-Moreno y Sarmiento 1995), se determinó la concentración de nitrógeno en las hojas, siguiendo la metodología de micro-Kjeldahl descrita por Muller (1961).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Fig. 1 se observa que los distintos tipos de hojas tienen, en general, mayores tasas fotosintéticas cuanto menor es el tiempo transcurrido después del corte. Estos resultados indican que una primera respuesta a la defoliación es el aumento de las tasas fotosintéticas, para compensar las pérdidas

y reponer rápidamente la biomasa foliar. Resultados similares se observan en otras especies como respuesta a la defoliación (Detling *et al.* 1979; Gifford y Marshall 1973; Caldwell *et al.* 1981). Cada curva es la correlación logarítmica ($y=a+(b \cdot \ln x)$) no menor de 30 puntos. Los coeficientes de correlación (r) son los siguientes:

	Tiempo transcurrido después del corte (días)		
	11 y 12	23 y 27	control
Tipo JUV	0.953	0.836	0.768
de MAD	0.959	0.921	0.818
hoja SEN	0.900	0.883	0.741

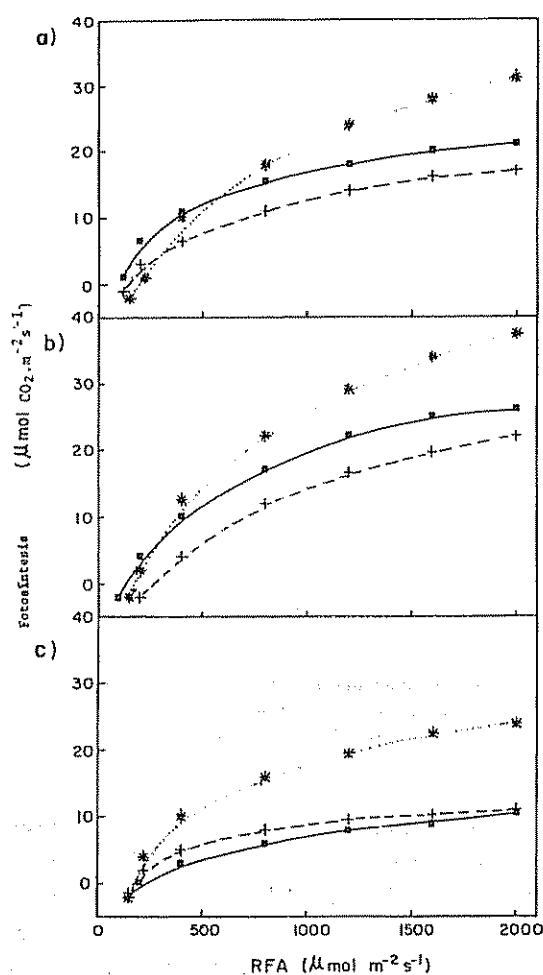


Fig. 1. Variación de la tasa fotosintética de *P. maximum* en función de la radiación para diferentes tipos de hojas en condiciones naturales: a) hojas juveniles, b) hojas maduras, c) hojas senescentes; con diferente tiempo transcurrido después del corte: plantas control (-*-), 23 y 27 días después del corte (-+-), 11 y 12 días después del corte (-*-).

Se encontró que las hojas maduras presentan las mayores tasas fotosintéticas a iguales intensidades de RFA, seguidas por las juveniles y, por último, las senescentes. Esto puede ser porque las hojas maduras presentan un completo desarrollo y expansión de la lámina foliar; mientras que las juveniles aún no se han expandido y las hojas senescentes han perdido parte de su capacidad asimilativa.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Parsons *et al.* (1983), quienes encontraron que las hojas juveniles y maduras contribuyen con el 77% de la asimilación. También Ludlow y Wilson (1971b) encontraron que, en algunas especies de gramíneas C4, las hojas más jóvenes y viejas presentan menores tasas fotosintéticas que las hojas con edad intermedia.

Las tasas fotosintéticas de las hojas maduras en las plantas de control son un poco más bajas ($25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) que las encontradas por Ludlow y Wilson (1971a) en *P. maximum* ($34.36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a $1800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de RFA) en condiciones controladas de laboratorio; mientras que estas mediciones corresponden a condiciones de campo.

También se observa que casi ningún tipo de hoja, especialmente las maduras, presenta saturación a intensidades altas de radiación (Fig. 1a, b, c), lo cual puede ser un mecanismo de optimación de luz, ya que la cantidad que llega al tejido remanente es mucho mayor.

En las hojas senescentes (Fig. 1c) se aprecian importantes diferencias entre las tasas fotosintéticas de las hojas 11 y 12 días después del corte y de las hojas de las plantas de control y con 23 y 27 días después del corte, que son similares. Estas mayores tasas en las hojas senescentes con 11 y 12 días después del corte se deben a que éstas aún no han envejecido completamente, o por traslado de sustancias desde los órganos de reserva, aumentando así su tasa fotosintética, como sugiere McNaughton (1983a).

No se observan diferencias entre las hojas de las plantas de control y las que tienen entre 23 y 27 días después del corte, incluso la tasa en las plantas de control es un poco mayor en las hojas juveniles y adultas, lo que indica que luego de 25 días después del corte cesa el efecto sobre la tasa fotosintética.

El rango de temperatura foliar para la fotosíntesis es muy estrecho (Fig. 2a), entre 32° C y 37° C, para la máxima obtención del 80% de asimilación posible, es decir un rango de solo 5° centígrados. También se encontró que no hay modificación en temperatura óptima con las diferentes frecuencias de corte; esto indica

que los cambios en la tasa asimilatoria no son el producto de cambios en la temperatura, sino de otros procesos desencadenados en la planta como respuesta a la defoliación.

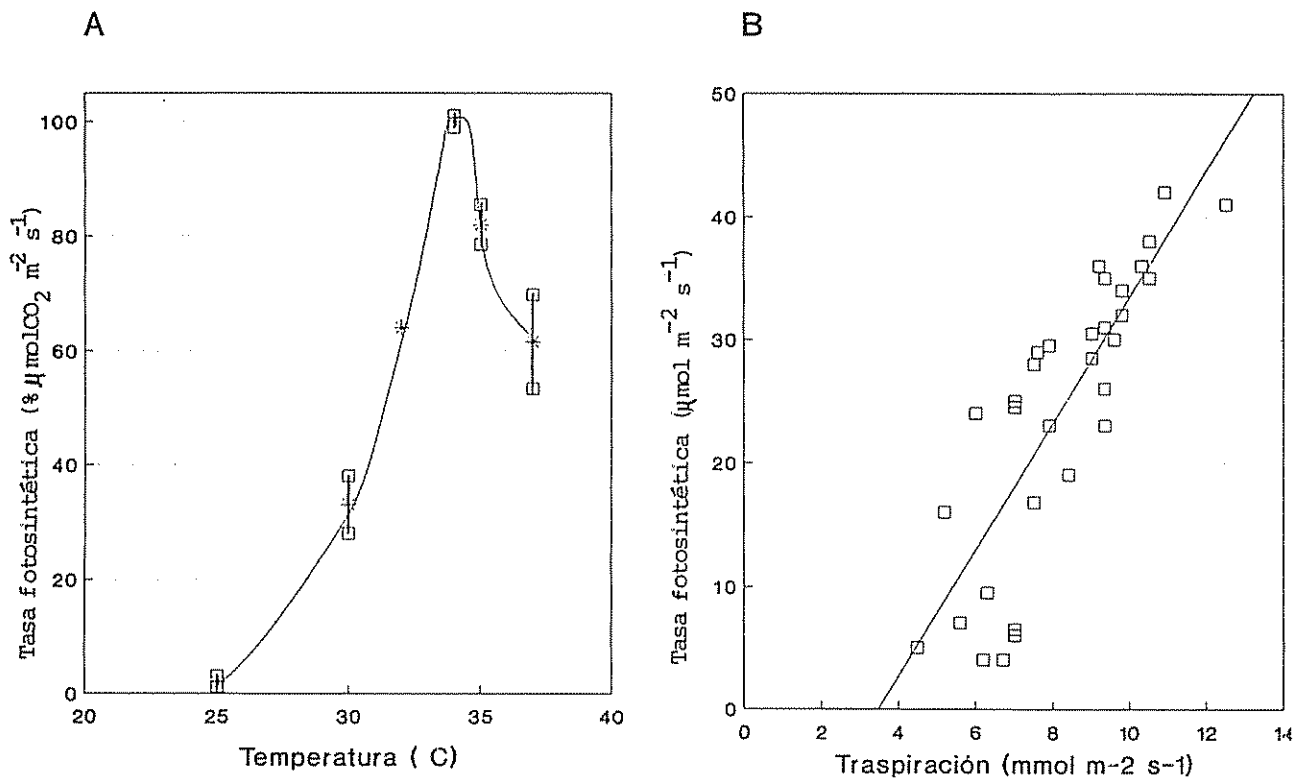


Fig. 2. a) Respuesta de la tasa fotosintética (%) a los cambios en la temperatura foliar en condiciones de campo. Las barras corresponden al error estándar; b) relación entre la tasa fotosintética ($\mu\text{mol/m}^2 \cdot \text{s}$) y la tasa traspiratoria ($\text{mmol/m}^2 \cdot \text{s}$). La línea corresponde a una regresión lineal ($y = a + b \cdot x$) donde $a = -18$ y $b = 5$, con un coeficiente de correlación $r = 0.806$.

La relación entre fotosíntesis y traspiración es lineal y positiva (Fig. 2b), encontrándose mayores tasas fotosintéticas a las tasas traspiratorias entre 10 y 12 $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Esta observación sugiere que los costos para obtener altas tasas asimilativas constituyen una gran pérdida de agua por traspiración.

El área foliar se incrementa casi linealmente en los primeros 40 días subsiguientes al corte, disminuyendo luego en forma igualmente pronunciada (Fig. 3).

Al relacionar los resultados de la tasa fotosintética, la traspiración y el área foliar, para lo primeros días después del corte, se alcanzan las mayores tasas de fotosíntesis cuando la superficie foliar es menor, y se evitan grandes pérdidas de agua. Luego, al aumentar la superficie foliar, la tasa fotosintética disminuye al igual que la tasa traspiratoria y las pérdidas de agua no son elevadas. Este hecho constituye un mecanismo de compensación a la pérdida de agua (McNaughton 1983a,b; McNaughton *et al.* 1983).

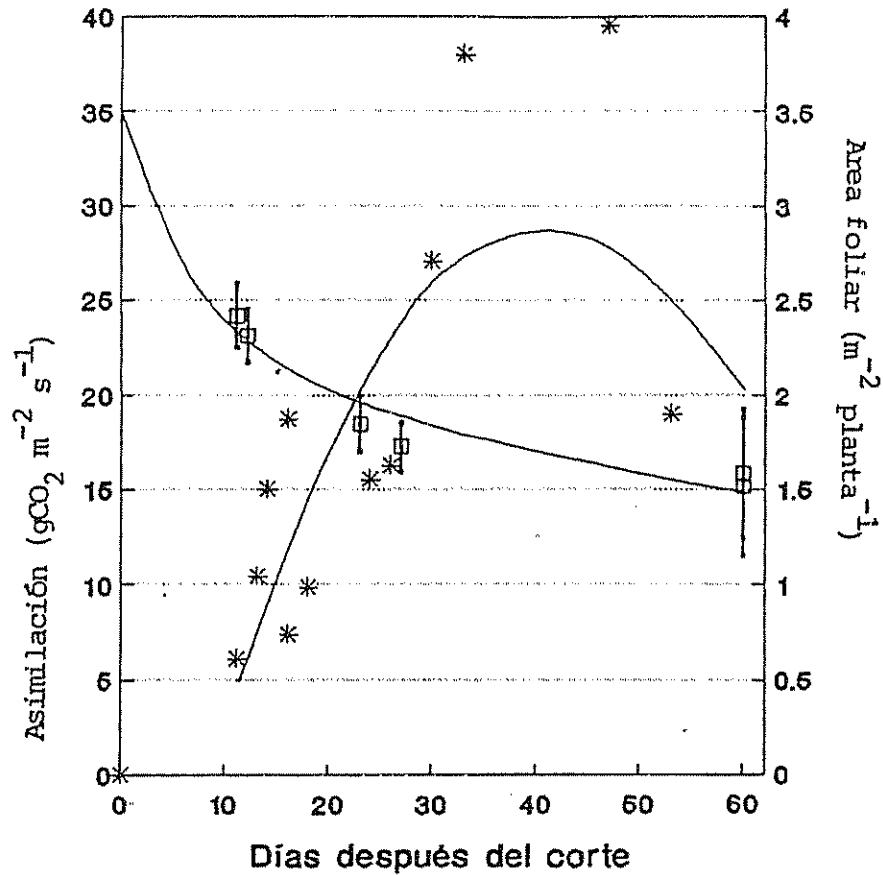


Fig. 3. Variación del área foliar por planta de *P. maximum* en los 60 días siguientes al corte (*-*). La curva está ajustada a una regresión cuadrática ($y = ax^2+bx+c$) con los siguientes valores: $a = -2.78 \times 10^{-3}$; $b = 0.23$; $c = -1.64$; $r^2 = 0.64$, y error = 0.73. También se presenta la tasa de asimilación diaria de CO₂ durante los 60 días siguientes al corte. La curva corresponde a una regresión logarítmica ($y = a+(b \ln x)$) ajustada a los puntos señalados (cuadrado vacío), cuyos valores son: $a = 34.95$; $b = -4.91$, y $r^2 = 0.92$. Las barras señalan el error estándar.

El resultado de este mecanismo es mayor "eficacia en el uso de agua", así, por ejemplo, las plantas 12 días después del corte presentan una eficacia de 3.64 y una eficiencia en el uso de agua de 2.91; comparada con las plantas en condiciones normales (sin corte) que tienen una eficacia de 1.43 y una eficiencia de 2.85. Se denomina "eficacia en el uso de agua" (EFI) a la relación entre la asimilación (A) y la cantidad total de agua transpirada por la planta, la cual depende de la tasa transpiratoria (E) y del área foliar (a): $EFI = A / E \cdot a$; mientras que la eficiencia en el uso de agua se define

como la relación entre la tasa fotosintética (A) y la tasa transpiratoria (E), sin considerar el área foliar total y la cantidad total de agua transpirada.

Las hojas maduras tienen las mayores tasas diarias de asimilación, seguidas de las juveniles y, por último, de las senescentes (Cuadro 1). Las hojas maduras contribuyen con 80% a 90% del área foliar total, y, en promedio, con el 88% de la asimilación diaria total de la planta (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tasas fotosintéticas diarias, área foliar y total de CO₂ asimilado en hojas senescentes, maduras y juveniles en plantas a los 11, 12, 23 y 27 días después del corte, y en plantas de control a los 119 y 160 días después de la siembra (se indica la fecha de medición).

Fecha medición	Tipo de hoja	Tratamiento	Tasa diaria (molCO ₂ m ⁻²)	Error típico (m ²)	Área foliar (%)	Total asimilado (mol)	(%)
24/09/1987	senescente	A 119 días después de la siembra	0.15 ± 0.036	0.08	6.1	0.01	2.7
	madura		0.38 ± 0.080	1.17	90.1	0.44	94.1
	juvenil		0.31 ± 0.068	0.05	3.8	0.02	3.2
TOTAL				1.30		0.47	
24/09/1987	senescente	B con 12 días después del corte	0.32 ± 0.054	0.02	1.9	0.01	1.8
	madura		0.55 ± 0.028	0.91	87.5	0.50	90.9
	juvenil		0.39 ± 0.062	0.11	10.6	0.04	7.2
TOTAL				1.04		0.55	
24/09/1987	senescente	C con 23 días después del corte	0.15 ± 0.023	0.08	5.1	0.01	1.8
	madura		0.44 ± 0.031	1.36	87.2	0.60	92.2
	juvenil		0.33 ± 0.060	0.12	7.7	0.04	6.0
TOTAL				1.56		0.65	
04/11/1987	senescente	A 160 días después de la siembra	0.12 ± 0.029	0.48	20.9	0.06	6.7
	madura		0.48 ± 0.101	1.52	66.4	0.73	82.0
	juvenil		0.34 ± 0.075	0.29	12.7	0.10	11.2
TOTAL				2.29		0.89	
04/11/1987	senescente	B con 27 días después del corte	0.14 ± 0.021	0.25	9.2	0.03	2.8
	madura		0.42 ± 0.029	2.35	86.8	0.99	94.3
	juvenil		0.32 ± 0.058	0.11	4.0	0.03	2.8
TOTAL				2.71		1.05	
04/11/87	madura	C con 11 días después del corte	0.59 ± 0.030	1.17	77.7	0.69	83.3
	juvenil		0.41 ± 0.066	0.34	22.3	0.14	16.7
TOTAL				0.51		0.83	

En la Fig. 3, la asimilación diaria de CO₂ disminuye a medida que transcurre el tiempo después del corte, desde valores de 30 gCO₂ m⁻² d⁻¹ en los primeros tres días hasta 15 gCO₂ m⁻² d⁻¹ al cabo de 60 días.

Esta alta tasa de asimilación diaria en los primeros días después del corte permite acumular, en poco tiempo, una gran cantidad de asimilados para la producción de nuevas hojas.

El aumento del área foliar 40 días siguientes al corte (Fig. 2) se debe a dos factores: aumento en la

tasa asimilatoria, y redistribución y acumulación de los nuevos asimilados. La disminución rápida en el área foliar luego de 40 días del corte indica un cambio en la distribución de asimilados hacia la producción de inflorescencias y órganos de sostén, acelerado por el corte (Chacón-Moreno y Sarmiento 1995).

A partir de los resultados obtenidos para el área foliar y la tasa de asimilación diaria de CO₂ (Fig. 3), se sugiere que la frecuencia óptima de corte estaría alrededor de 40 días. Sin embargo a partir de este momento el carbono asimilado es asignado a

acelerado por el corte (Chacón-Moreno y Sarmiento 1995).

A partir de los resultados obtenidos para el área foliar y la tasa de asimilación diaria de CO_2 (Fig. 3), se sugiere que la frecuencia óptima de corte estaría alrededor de 40 días. Sin embargo a partir de este momento el carbono asimilado es asignado a estructuras de sostén y de reproducción (Chacón-Moreno y Sarmiento 1995), en consecuencia la frecuencia para producir un rendimiento óptimo de forraje sería entre 30 y 35 días, cuando la tasa asimilatoria es más alta con respecto a la encontrada en las plantas de control, y que el área foliar está cercana al máximo.

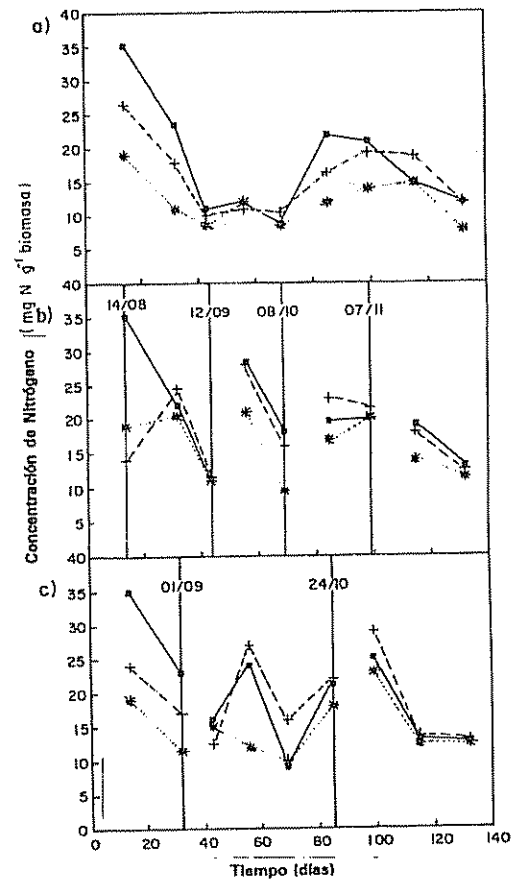
Se observa al inicio de la experiencia y después de cada corte una alta concentración de nitrógeno ([N]) en todos los grupos de plantas (Fig. 4). Además la concentración de nitrógeno es un poco mayor en las hojas maduras, seguido de las juveniles, y de las senescentes con menor concentración.

Fig. 4. Cambios en la concentración de nitrógeno foliar de *P. maximum* durante 140 días de experimento en el grupo de control (a); tratamiento de corte cada 30 días (b); y tratamiento de corte cada 60 días (c). Las diferentes curvas corresponden con los tipos de hoja: juveniles (-*-), maduras (-+-) y senescentes (-*-). Las líneas verticales señalan el momento de corte.

La elevada [N] foliar al inicio del crecimiento en las plantas de control (14/08/1987) se debe a la baja cantidad de biomasa y a la alta disponibilidad de nitrógeno en el suelo, ya que poco tiempo antes se fertilizó (27/07/1987).

La mayor [N] foliar en los primeros días siguientes al corte para ambos grupos se debe a un menor efecto de dilución del nitrógeno ante la menor área foliar en esos días. Esta mayor [N] promueve un aumento en las tasas fotosintéticas (Field y Mooney 1986), como una respuesta de compensación a la eliminación de la biomasa foliar por el corte.

CONCLUSIONES



En la respuesta de *P. maximum* al corte están implicados varios mecanismos o procesos que permiten a la planta compensar rápidamente los efectos de la pérdida de biomasa asimilatoria. Los principales mecanismos observados son: a) aumento en la tasa fotosintética y en la de asimilación diaria de CO_2 , inmediatamente después del corte; b) mayor producción de hojas maduras, que tienen mayor tasa fotosintética; c) mayor eficacia fotosintética en los primeros días después del corte, lo cual permite que las pérdidas de agua por las altas tasas transpiratorias sean bajas y la fotosíntesis alta; d) rápido crecimiento del área foliar y distribución preferencial de los nuevos asimilados en tejidos asimilativos; e) traslado de sustancias de reserva desde los órganos subterráneos (Chacón-Moreno y Sarmiento 1995); f) mayor concentración de nitrógeno en las hojas, favoreciendo los procesos fotosintéticos y de crecimiento.

LITERATURA CITADA

- ACEVEDO, D.; SARMIENTO, G. 1990. Intercepción de la lluvia, escorrentía superficial y drenaje profundo en una pastura tropical y un cultivo de maíz en Barinas, Venezuela. *Ecotrópicos* 3:12-32.
- CAEMMERER, S. VON; FARQUHAR, G.D. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and gas exchange of leaves. *Planta* 153:376-387.
- CALDWELL, M.M.; RICHARDS, J.H.; JOHNSON, D.A.; NOWAK, R.S.; DZUREC, R.S. 1981. Coping with herbivory: Photosynthetic capacity and resource allocation in two semiarid agropyron bunchgrasses. *Oecologia* (Alemania) 50:14-24.
- CHACON, E. 1989. Estudio de la producción primaria de una gramínea tropical bajo diferentes frecuencias de corte y su interpretación en base a la dinámica de las superficies asimilatorias. Tesis Lic. Mérida, Méx., Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. p. 157.
- CHACON-MORENO, E.; SARMIENTO, G. 1995. Dinámica del crecimiento y producción primaria de una gramínea tropical, *Panicum maximum* (Tipo Común) sometida a diferentes frecuencias de corte. Turrialba (C.R.). En prensa.
- DETLING, J.; DYER, M.; WIM, D. 1979. Net photosynthesis, root respiration and regrowth of *Bouteloua gracilis* following simulated grazing. *Oecologia* 41:127-134.
- FIELD, C.; MOONEY, H.A. 1986. The photosynthesis - nitrogen relationship in wild plants: On the economy of plant form and function. T.J. Givnish (Ed). Cambridge University Press. p. 25-55.
- GIFFORD, R.; MARSHALL, C. 1973. Photosynthesis and assimilated distribution in *Lolium multiflorum* Lam. following differential tiller defoliation. *Australian Journal of Biological Sciences* 36: 517-526.
- HEIJER, J.; SARMIENTO, G.; ALDANA, T.; ZUVIA, M.; ACEVEDO, D.; THIERY, J. 1989. The fate of nitrogen under maize and pasture cultivated on an alfisol in the western Llanos savannas, Venezuela. *Plant and Soil* (Holanda) 114:295-302.
- LUDLOW, M.; WILSON, G. 1971a. Photosynthesis of tropical pasture plants II. Temperature and illuminance history. *Australian Journal of Biological Sciences* 24:1065-1075.
- LUDLOW, M.; WILSON, G. 1971b. Photosynthesis of tropical pasture plants III. Leaf age. *Australian Journal of Biological Sciences* 24:1077-1087.
- MCNAUGHTON, S.J. 1979. Grazing as an optimization process: Grass-ungulate relationships in the Serengeti. *American Naturalist* 113:691-703.
- MCNAUGHTON, S.J. 1983a. Physiological and ecological implications of herbivory. III. Physiological Plant Ecology. O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond, H. Ziegler (Eds). Berlin, Springer-Verlag. v. 12C, p. 657-677.
- MCNAUGHTON, S.J. 1983b. Compensatory plant growth as a response to herbivory. *Oikos. Acta Oecologica Scandinavica* (Dinamarca) 40:329-336.
- MCNAUGHTON, S.J.; WALLACE, L.L.; COUGHENOUR, M.B. 1983. Plant adaptation in an ecosystem context: Effects of defoliation, nitrogen and water on growth of an African C₄ sedge. *Ecology* (EE.UU.) 64:307-318.
- MULLER, L. 1961. Un aparato microkjeldahl simple para análisis rutinarios rápidos de materiales vegetales. *Turrialba* (C.R.) 11:17-25.
- PARSONS, A.J.; LEAFE, E.L.; COLLET, B.; STILES, W. 1983. The physiology of grass production under grazing: Characteristics of leaf and canopy photosynthesis of continuously-grazed swards. *Journal of Applied Ecology* (Inglaterra) 20:117-126.
- SARMIENTO, G. 1983. The savannas of tropical América: Tropical Savannas. F. Bourlière (Ed). Elsevier Amsterdam. p. 245-288.
- WALLACE, L.L.; MC NAUGHTON, S.J.; COUGHENOUR, M.B. 1984. Compensatory photosynthetic responses of three African graminoids to different fertilization watering and clipping regimes. *Botanical Gazette* (EE.UU.) 145: 151-156.
- WALLACE, L.L.; MC NAUGHTON, S.J.; COUGHENOUR, M.B. 1985. Effects of clipping and four levels of nitrogen on the gas exchange, growth and production of two east African graminoids. *American Journal of Botany* 72:222-230.

Potasio: Comparación del comportamiento de diferentes métodos en suelos cultivados y sin cultivar¹

A. M. de la Horra², M. E. Conti³, V. Sanguesa², M. Moretti⁴

RESUMEN

Se estudiaron los porcentajes de disminución de potasio producidos por agricultura continua en cuatro suelos pertenecientes a las series Pergamino, Marcos Juárez, Atucha y 9 de Julio. Se determinaron dichas disminuciones por métodos químicos y biológicos. También se relacionaron las cantidades de potasio extraídas por los métodos químicos entre sí y el absorbido por el *rye-grass* (hallica). En suelos cultivados, los porcentajes de disminución determinados por el *rye-grass* son inferiores aproximadamente en un 6% a los obtenidos con acetato de amonio, Mehlich y resinas de intercambio catiónico, presentando una correlación altamente significativa. La extracción con cloruro de calcio presenta los valores más altos en los porcentajes de disminución y el ácido nítrico, los más bajos. Relacionando las cantidades de potasio absorbido por el *rye-grass* con lo extraído por los métodos químicos, se encontró que el acetato de amonio y las resinas de intercambio catiónico presentan las mejores correlaciones ($r = 0.95$). El reactivo de Mehlich es el que extrae cantidades de potasio más próximas a las absorbidas por el vegetal, presentando un coeficiente de correlación de $r = 0.84$. Los métodos químicos entre sí presentan buena correlación, excepto el ácido nítrico con cloruro de calcio y Mehlich.

Palabras claves : Potasio, potasio intercambiable, potasio absorbido, potasio del suelo.

ABSTRACT

The percent reduction of potassium caused by continuous agriculture in four soils of Argentina was studied. Reductions were determined by chemical and biological methods. The quantities of potassium extracted by the chemical methods were also compared with each other, as well as with the absorption of the ryegrass. In the cultivated soils, the percent of reductions determined in ryegrass are approximately 6% lower than those obtained with ammonium acetate, Mehlich extract and cation exchange resins, presenting a highly significant correlation. The highest percent in reduction values was obtained with calcium chloride extraction and the lowest with nitric acid. Relating quantities of absorbed potassium in ryegrass to what was extracted with chemical methods, it was found that ammonium acetate and cation exchange resins present the best correlations ($r = 0.95$). The Mehlich method extracted quantities of potassium similar to those of the grass, presenting a correlation coefficient of $r = 0.84$. The chemical methods presented good correlations with each other, except for the nitric acid with calcium chloride and Mehlich extract.

Key words: Potassium, exchange potassium, potassium uptake, soil potassium.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de los suelos produce una disminución en la cantidad de potasio disponible para los vegetales. Esta disminución depende de las características de los suelos en estudio y de la intensidad de los cultivos a que han sido sometidos.

Cuando se trata de cuantificar el potasio del suelo disponible para los cultivos, se realiza en general con diferentes extractantes químicos, pero ninguno es de aplicación universal. Su comportamiento es muy variable según el tipo de suelo utilizado.

Los métodos biológicos aportan información más real acerca de la cantidad de potasio accesible a las plantas. Goulding (1987) y Barber (1984) concluyen que la absorción de este nutriente por los vegetales, es la forma más confiable para analizar su disponibilidad en los suelos.

Si bien los métodos biológicos son los más confiables, su implementación y tiempo requerido no hace poco prácticos, por ello se reemplazan con el uso de diversos extractantes químicos, y es aconsejable que estos métodos químicos sean calibrados a partir de los anteriores.

Por esta razón se realizó un ensayo de invernáculo utilizando el método de De Ment *et al.* (1959) con las modificaciones efectuadas por Binet *et al.* (1984), sobre cuatro suelos de importancia

¹ Recibido el 1 de octubre de 1993

* Cátedra de Química General e Inorgánica, Facultad de Agronomía, UBA, Buenos Aires, Arg.

** Cátedra de Edafología, Facultad de Agronomía, UBA, Buenos Aires, Arg.

agrícola en el país. Cada uno presenta dos situaciones: suelo sin cultivar y suelo sometido a varios años de agricultura continua. Los resultados de este estudio se comparan con los datos obtenidos usando diferentes métodos químicos.

El presente trabajo se planificó siguiendo dos objetivos principales:

- Determinar la sensibilidad de los métodos químicos para evaluar las disminuciones de potasio disponible producidas en los suelos por efecto de los cultivos.
- Analizar el comportamiento de los diferentes métodos químicos y compararlos con el método biológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Suelos

Se eligieron cuatro suelos pertenecientes a cuatro series de importancia agronómica. El material originario es loes pampeano, con textura superficial francolímosa y francoarenosa.

Se utilizaron suelos vírgenes y sus homólogos cultivados durante aproximadamente diez años con agricultura continua. Las series son: Pergamino (Argiudol típico, fina illítica, térmica), Marcos Juárez (Argiudol típico, fina mixta, térmica), Atucha (Argialbol típico, fina illítica, térmica), 9 de julio (Hapludol éntico).

Las muestras de suelo fueron secadas al aire, molidas y tamizadas por malla de dos milímetros.

Análisis efectuados en las muestras de suelo

Determinación de potasio extractable: las muestras de suelo se extrajeron con diferentes soluciones, y se determinó el contenido de potasio por fotometría de llama. Los extractantes empleados fueron: a) acetato de amonio 1 N pH = 7 (potasio intercambiable). Se percolaron 2 g de suelo con 50 ml de acetato de amonio 1 N; b) ácido nítrico 1 N a 113°C. Se utilizó el método de Pratt y Morse (1954); c) ácido nítrico 1 N a 100° centígrados. El mismo método, pero disminuyendo la temperatura a

100° centígrados; d) ácido sulfúrico 0.025N + ácido clorhídrico 0,05 N (Mehlich I) de Sims (1985); e) cloruro de calcio 0.01 M según el método de Sinclair (1982).

Extracción con resinas de intercambio catiónico: Se usó el método de van Raij *et al.* (1986) con la siguiente modificación: se coloca la resina, que estará en contacto con el suelo, en una bolsita de aproximadamente 5 cm de diámetro confeccionada en género de trama fina.

Análisis del material vegetal

Se disgregó por vía húmeda usando ácido perclórico y ácido nítrico. La determinación de potasio se realizó por fotometría de llama.

Experimento en invernáculo

Se empleó el método de De Ment *et al.* (1959), modificado por Quemener y Rolland (1970) y por Binet *et al.* (1984).

Se planeó el experimento siguiendo un diseño de bloques completos aleatoriamente distribuidos, con tres repeticiones. Cada bloque formado por nueve macetas, una para cada suelo y una con arena correspondiente al blanco. En cada muestra se descontó el dato de potasio correspondiente al blanco. El experimento totalizó 27 macetas.

La arena utilizada en el experimento fue lavada exhaustivamente con solución de ácido clorhídrico al 10 por ciento. Se sembró *ryegrass perenne* (*Lolium perenne* sp.) con una densidad de 200 plantas por maceta.

El ensayo se realizó en dos fases: en la primera, de 10 días de duración, las plántulas se desarrollaron en arena (500 g por pote, con fondo removible) y, en la segunda, los potes anteriores (a los cuales se les sacó el fondo) se colocaron sobre nuevos recipientes que contenían una mezcla de suelo-arena (100 g de suelo y 300 g de arena) durante 20 días.

La duración total del ensayo fue de 30 días. Durante ese período se usó la solución nutritiva y la

frecuencia de riego indicada por Quemener y Rolland (1970), manteniendo las macetas en capacidad de campo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento de los suelos

Para determinar el efecto producido por los cultivos sobre el potasio disponible se realizó un experimento en invernáculo siguiendo la técnica de De Ment y Stanford. Este método está destinado a dosar el potasio presente en las fracciones más móviles (Quemener 1978). Consiste en aplicar un cultivo deficiente en potasio sobre el suelo en estudio. La corta duración del experimento permite mejor estandarización, eliminando las posibles diferencias en la germinación entre un suelo y otro, permitiendo la aplicación a todos los suelos de un tipo de "reactivo vegetal" preparado anteriormente y que puede ser considerado constante (Quemener y Rolland 1970).

En todos los casos se evidencia una menor cantidad de potasio absorbida por el *ryegrass* en los suelos cultivados que sin cultivar (Cuadro 1), siendo variable según los suelos. Así para Atucha y 9 de julio la disminución es de un 44 % mientras que para Pergamino y Marcos Juárez es del orden del 10% (Fig. 1).

Cuadro 1. Potasio absorbido por el *ryegrass* y extraído por diferentes extractantes químicos (cmol_c·kg⁻¹).

Suelos	NH ₄ Ac (100°C)	HNO ₃ (113°C)	HNO ₃	Mehlich	Resina	CaCl ₂	<i>ryegrass</i>	<i>ryegrass</i> kg/ha
M. Juárez(1)	2.38	4.38	4.38	1.24	2.60	0.77	1.38	1.399
M. Juárez(2)	1.89	3.98	3.93	0.98	2.00	0.55	1.17	1.186
Pergamino(1)	1.79	3.30	3.90	0.88	1.93	0.56	1.06	1.075
Pergamino(2)	1.59	2.83	3.14	0.78	1.64	0.46	0.96	928
9 de Julio(1)	2.59	3.65	3.80	1.58	2.66	1.04	1.36	1.379
9 de Julio(2)	1.31	2.44	2.89	0.78	1.37	0.51	0.76	770
Atucha(1)	2.31	3.49	3.53	1.32	2.41	0.90	1.13	1.145
Atucha(2)	1.13	2.49	2.83	0.66	1.24	0.38	0.64	689

(1) Suelos sin cultivar

(2) Suelos cultivados

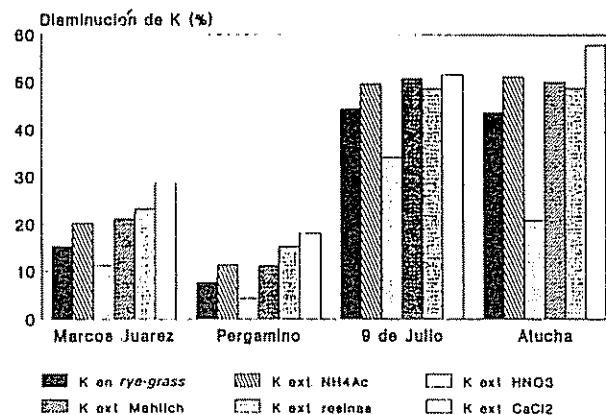


Fig. 1. Disminución de K producida por los cultivos (%).

Con respecto a la determinación con extractantes químicos se observa (Fig.1) que los diferentes reactivos usados presentan un comportamiento similar al manifestado por el *ryegrass*, encontrándose que las disminuciones para Marcos Juárez y Pergamino son bajas, variando entre 10% y 20% y 50% para los otros suelos.

Los menores porcentajes de disminución se encuentran en las determinaciones con ácido nítrico -este reactivo extrae el potasio intercambiable y el fijado. Para Marcos Juárez y Pergamino este método detecta menores disminuciones (10%) que para 9 de Julio y Atucha (30%).

En todos los casos, la extracción con cloruro de calcio presenta los mayores porcentajes de disminución, debido a que este reactivo determina la forma más lábil de potasio -siendo ésta la fracción más sensible al efecto de los cultivos.

Se calcularon los coeficientes de correlación de los porcentajes de disminución presentado por el *ryegrass* y los métodos químicos, resultando, para el acetato de amonio, las resinas de intercambio y el Mehlich, un $r > 0,99$; para el cloruro de calcio, un $r = 0,98$; y no significativamente diferente que cero para el ácido nítrico.

Comparación de las cantidades de potasio

En el Cuadro 1 se muestran las cantidades de potasio ($\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$) extraídas por los diferentes métodos utilizados. Es de hacer notar que la cantidad absorbida por el *ryegrass* es inferior en todos los suelos al potasio intercambiable, aproximadamente en 55 por ciento. Este hecho es también observado por Binet *et al.* (1984). Quemener (1978) comprobó que la relación **K absorción vegetal/K inter. inicial** es variable, pudiendo ser menor que uno en suelos con alto contenido de arcilla y puede, excepcionalmente, alcanzar valores de 5 a 10 en suelos poco desarrollados.

Esto indica que el *ryegrass* absorbe el potasio ubicado en los sitios menos específicos, ya que su liberación sigue una dinámica donde el pasaje a la forma soluble, a partir del intercambiable, se produce con distinta facilidad según la ubicación del mismo en el complejo de cambio (Mengel y Kirby 1987). No obstante, las cantidades absorbidas por el vegetal representan valores en kilogramos por hectárea superiores a los requeridos por una cosecha (Cuadro 1).

Si se compara el potasio extraído por el reactivo de Mehlich y el absorbido por el *ryegrass*, se encuentra que ambos presentan valores similares. Con respecto al acetato de amonio se observa que el reactivo de Mehlich es menos efectivo, y la cantidad extraída por este último es de 50% a 60% del potasio intercambiable. Van Lierop y Tran (1985) encontraron lo mismo y consideran que puede deberse a que la solución extractante de Mehlich contiene 2.25 mEq de H^+ entre gramo de suelo (en condiciones experimentales), mientras que para el acetato de amonio la relación es de 25 mEq de NH_4^+ /g de suelo. En este trabajo, el extractante Mehlich I utilizado contiene 0.3 mEq H^+ entre gramo de suelo.

Stout (1982) encontró que la cantidad de potasio extraída por Mehlich fue mayor en algunos suelos y menor en otros, dependiendo del contenido de arcilla de los mismos. Una ventaja para el uso de este método es que el mismo extracto puede usarse para la determinación de otros elementos, por ejemplo, fósforo (Sims 1985).

La extracción con cloruro de calcio, que aporta una evaluación del potasio más lábil dentro del intercambiable, determina aproximadamente 50% del absorbido por el *ryegrass* y 30% del obtenido con acetato de amonio. Como en el caso del reactivo de Mehlich se dispone de una menor concentración de iones intercambiadores de potasio. Chandra Prakash y Sing (1986) observan el mismo resultado.

La extracción con resinas de intercambio catiónico presenta valores de potasio mayores que las cantidades del mismo, absorbidas por el vegetal, siendo próximos a los obtenidos con acetato de amonio. El mismo resultado obtuvo Van Raij *et al.* (1986). Otros autores, que emplean extracciones sucesivas con resinas, obtienen valores de potasio muy superiores, ya que extraen parte del no intercambiable (Havlin y Westfall 1985).

Ya que la parte experimental de este método es muy laboriosa y de alto costo, y visto los resultados obtenidos, se concluye que no es un método aconsejable para análisis de rutina.

Las mayores cantidades de potasio fueron extraídas por el ácido nítrico 1 N, encontrándose valores que varían entre 4.38 y 2.44 $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$. Chandra Prakash y Sing (1986) también obtuvieron los valores más altos con este extractante. Este comportamiento se atribuye a altas temperaturas y que siendo este ácido un fuerte oxidante, es capaz de liberar potasio de la forma no intercambiable por destrucción de la estructura tridimensional de los minerales primarios y secundarios, previa oxidación de la materia orgánica.

El hecho de usar 100°C y 113°C en esta determinación tiene como finalidad comprobar si esta variación en la temperatura no afecta las cantidades de potasio extraído, lo cual acarrearía una ventaja práctica dada la mayor facilidad para mantener la temperatura durante el tiempo de extracción a 100°C en lugar de 113° centígrados. El análisis de variancia indicó que no existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los datos obtenidos a ambas temperaturas.

El cuadro 2 muestra la matriz de correlaciones entre los distintos métodos usados. Se observa buena correlación entre todos ellos excepto para los datos obtenidos por extracción con ácido nítrico y cloruro de calcio, y ácido nítrico y Mehlich.

Cuadro 2. Matriz de correlaciones entre el potasio extraído por los diferentes métodos (químico y biológico).

	Planta	NH ₄ Ac	Mehlich	Resinas	Cu ₂ Cl 100°C	HNO ₃ 113°C	HNO ₃
Planta	1.00*						
NH ₄ Ac	0.95*	1.00*					
Mehlich	0.86*	0.96*	1.00*				
Resinas	0.95*	0.99*	0.94*	1.00*			
Cu ₂ Cl ₂	0.78*	0.92*	0.98*	0.90*	1.00*		
HNO ₃ (100°C)	0.93*	0.84*	0.70	0.87*	0.61	1.00*	
HNO ₃ (113°C)	0.90*	0.78*	0.61	0.83*	0.54	0.96*	1.00*

*Significativamente diferente de cero al nivel de cinco por ciento.

Para los suelos estudiados, se puede observar que los métodos que mejor correlacionan con el potasio absorbido por el vegetal, son la extracción con acetato de amonio y las resinas de intercambio catiónico. El reactivo de Mehlich, que extrae las cantidades más próximas al determinado por el *ryegrass*, presenta un coeficiente de correlación de $r = 0.84$.

CONCLUSIONES

En este ensayo se destacan las siguientes conclusiones:

— Todos los métodos químicos estudiados, al igual que el biológico, evidencian que el contenido de potasio extractable disminuye en los suelos cultivados con respecto a los vírgenes. Los porcentajes de disminución, calculados a partir del potasio absorbido por el *ryegrass*, son inferiores en aproximadamente 6% a los determinados con acetato de amonio, Mehlich y resinas de intercambio, con buena correlación ($r > 0.99$).

El cloruro de calcio es el reactivo que detecta porcentajes de disminución más altos y su coeficiente de correlación con respecto al *ryegrass* es de $r = 0.98$.

Los porcentajes de disminución determinados por el ácido nítrico son los más bajos, variando entre 5% y 30% según los suelos. El coeficiente de

correlación con respecto al *ryegrass* no es significativamente diferente de cero.

— La mayor correlación con el potasio absorbido por el *ryegrass* la presenta el acetato de amonio ($r = 0.95$), y las resinas de intercambio catiónico ($r = 0.95$). De estos dos métodos el más recomendable es el primero por su simplicidad y porque ambos extraen cantidades semejantes de potasio.

Para los suelos estudiados el reactivo de Mehlich extrae las cantidades más próximas a las absorbidas por el vegetal, presentando un coeficiente de correlación de $r = 0.84$.

LITERATURA CITADA

- BARBER, S. A. 1984. Soil nutrient bioavailability: A mechanistic approach. New York, Wiley Interscience. 398 p.
- BINET, P.; GUESSABI, L.; SALETTE, J. 1984. The potassium status of soils: Significance of the "Station Ryegrass Test". Fertilizer Research 5:393-402.
- CHANDRA PRAKASH, ?; SING, V. 1986. Evaluation of soil test methods for available potassium in alluvial soils. Journal of the Indian Society of Soil Science 34:425-427.
- DE MENT, J. D.; STANFORD, G.; BRADFORD, B. N. 1959. A method for measuring short-term absorption by plants. II. Potassium. Soil Science Society of America. Proceedings 27:47-50.
- GOULDING, K. W. T. 1987. Potassium fixation and release: Methodology in soil-K research. In Colloquium of International Potash Institute (20.). Baden Bei Wien, Austria p. 137-154.
- HAVLIN, J. L.; WESTFALL, D. G. 1985. Potassium release kinetics and plant response in calcareous soils. Soil Science Society of America Journal 49:366-370.
- MENGEL, K.; KIRBY, E. A. 1987. Principles of plant nutrition. International Potash Institute. p. 427-466.
- PRATT, P. F.; MORSE, H. 1954. Potassium release forms in Ohio soils. Research Bulletin. Ohio Agricultural Experiment Station no. 747.
- QUEMENER, J. 1978. The measurement of soil potassium. IPI Research Topics no. 4.
- QUEMENER, J.; ROLLAND, D. 1970. Application de la technique de Stanford et De Ment à l'extraction du potassium des sols. Annals of Agronomy 21:819-844.
- SIMS, T. 1985. A comparison of Mehlich I and Mehlich III extractants as predictors of manganese, copper and zinc

- availability in four Delaware soils. *Comm. of Soil Science Plant Annals* 16:1039-1051.
- SINCLAIR, A.H. 1982. A comparison of electro-ultrafiltration and quantity/intensity measurements of soil potassium with its uptake by rye-grass in Scottish soils. *Plant and Soil* 64:85-94.
- STOUT, W.L. 1982. Potassium and magnesium recovery from selected soils of the Allegheny Plateau. *Soil Science Society of America Journal* 46:1023-1027.
- VAN LIEROP, W; TRAN, S.T. 1985. Comparative potassium levels removed from soils by electro-ultrafiltration and some chemical extractants. *Canadian Journal of Soil Science* 65:25-34.
- VAN RAIJ, B.; QUAGGIO, J.A.; DA SILVA, N.M. 1986. Extraction of phosphorus, potassium, calcium and magnesium from soils by an ion-exchange resin procedure. *Comm. in Soil Science Plant Annals* 17:547-566.

Aplicación de la lombriz roja de California en la transformación de lodos de depuradoras urbanas¹

M. Delgado*, M. Bigeriego*, I. Walter*, R. Calvo*

RESUMEN

La vermicultura ha experimentado un gran desarrollo en los últimos años. Su aplicación en la transformación de distintos tipos de residuos orgánicos permite la mejora de sus características agronómicas. En el INIA se ha estudiado la aplicación de la vermicultura en la transformación de lodos de depuradoras urbanas, evaluándose la capacidad de adaptación de la lombriz roja de California en distintas mezclas de lodos con otros residuos orgánicos, así como la calidad agronómica de los productos resultantes. Esta adaptación se comprobó con el estudio de su supervivencia en mezclas de estiércol de ganado equino en distintas proporciones de dos tipos de lodos de depuradoras de aguas residuales de Madrid. Hubo un descenso del número de lombrices en mezclas con lodo de la depuradora Sur, compuesto que no fue previamente compostado. En mezclas con 50% de lodo Nutror, la supervivencia de la lombriz roja fue similar al testigo con base de estiércol, descendiendo drásticamente cuando se sobrepasó esta proporción. Para el lodo Sur se obtuvieron idénticos resultados cuando había sido ya compostado; así se demuestra la necesidad de fermentación aeróbica previa en productos que serán tratados por vermicultura. En el control efectuado, para estudiar la evolución de metales pesados totales en el "vermicompost", no se observó una clara incidencia del proceso de vermicompostaje sobre el contenido de metales pesados en el medio.

Palabras clave: Vermicultura, lombriz roja de California, lodo de depuradora.

ABSTRACT

Vermiculture is a process that has undergone a great development in recent years because its application in the transformation of different residues allows to improve their agronomic characteristics. INIA has studied the application of vermiculture for the transformation of sewage sludge, assessing the adaptation capacity of the California red worm on different mixtures of sewage sludges. Results showed that the survival of earthworms under soil decreased when mixed with Sur sewage sludge because it was not composted. In Nutror sewage sludge, the survival of earthworms decreased when the sewage sludge contained about 50% horse dung, and was equal to the pattern of dung when the mix was lower than 50%. The Sur sewage sludge was similar to the Nutror sludge when it was composted. The evolution of total heavy metals in the vermicompost was also studied, and no effect of the worm treatment on heavy metals content in the substrate was observed.

Key words: Vermiculture, red worm of California, sewage sludge.

INTRODUCCIÓN

El rápido desarrollo tecnológico ha hecho perder de vista ciertos conocimientos tan antiguos como la misma naturaleza. Ese es el caso de la vermicultura, una actividad agraria que consiste en transformar todo tipo de residuos orgánicos por medio de las lombrices de tierra, obteniéndose un fertilizante biorgánico de alto valor agronómico (Edwards *et al.* 1988; Haimi y Hutha 1990).

Aristóteles definió a las lombrices como el intestino de la tierra, y no fue hasta finales del pasado siglo cuando apareció la primera edición del libro "La formación del humus vegetal" donde

Darwin explica sus estudios y observaciones sobre el papel que desempeñan las lombrices en la transformación del suelo (1981).

Conscientes de ello, algunos agricultores estadounidenses seguidores de Darwin (1981) empezaron a utilizar las lombrices para la mejora de terrenos agrícolas directamente o por medio de fertilizantes biorgánicos que se producen al transformar los variados productos orgánicos de las fincas agrícolas, convirtiéndose así en los pioneros de la técnica agrícola biológica que se está utilizando de nuevo (Lavelle 1988; Simek y Pizl 1989).

Posteriormente, a causa de la aceptación general de que los recursos naturales no son infinitos, sino limitados, y que es necesario reciclarlos, la vermicultura, es decir, el cultivo o cría intensiva de

¹ Recibido el 18 de enero de 1994

* Área de Conservación del Medio Natural, Centro de Cálculo, INIA, Apdo 8111, Madrid 28080, España.

lombrices para la producción de abono ha experimentado un auge y difusión enorme (Rafats 1988).

En los últimos treinta años, el cultivo de lombriz ha llegado a ser una actividad industrial ampliamente difundida en Japón, Canadá, Estados Unidos de América y en diversos países de Europa.

En España, con el objeto de ofrecer una solución al problema de los residuos, se han desarrollado desde 1980 estudios de investigación en el campo de la vermicultura, orientados a la obtención de productos orgánicos de mayor valor agronómico.

El objetivo del presente trabajo es estudiar la utilización de la lombriz roja de California (*Lumbricus rubellus*) en la transformación de residuos urbanos, evaluando su capacidad de adaptación en distintas mezclas de lodo con estiércol y comprobando las características agronómicas del producto, resultante de dicha transformación, para reutilizarlo como abono orgánico-mineral.

MATERIALES Y MÉTODOS

El primer estudio sobre la supervivencia de la lombriz roja de California en distintas mezclas de subproductos orgánicos se realizó en invernadero, utilizando pequeños contenedores (recipientes de plástico de 40 cm x 40 cm x 20 cm) en los que se incorporó primeramente un lecho de humus de lombriz que sirve de cama, añadiéndose 200 lombrices en cada recipiente y, por último, 1 kg de mezclas de estiércol de ganado equino con distintas proporciones de dos tipos de lodos: uno, compostado, lodo Nutror, y otro, solamente desecado, lodo Sur, en los porcentajes siguientes:

Cuadro 1. Porcentaje de lodo y estiércol en cada muestra.

Muestra	Lodo (%)	Estiércol (%)
1	100	0
2	90	10
3	80	20
4	70	30
5	60	40
6	50	50
7	40	60
8	30	70
9	20	80
10	10	90
11	0	100

El diseño experimental anterior fue repetido pero a escala semiindustrial, utilizando literas de 2 m de ancho por 16.5 m de largo divididas en once partes iguales de 2 m x 1.5 m en el sentido longitudinal de las "camas de lombrices". La altura de los lechos estaba comprendida entre 20 cm y 25 cm dependiendo de las mezclas efectuadas.

Se uso el sistema de riego por aspersión, dotado de miniaspersores que permiten conseguir un riego homo-géneo. El número de riegos fue muy variable según la época del año. Se efectuaron análisis del estiércol, lodo-Nutror (*compost* procedente de la mezcla de cuatro estaciones depuradoras de Madrid: Butarque, Rejas, Sur y Sur Oriental, cuyo proceso de fabricación ha sido: secado de lodos, fermentación aerobia termófila por volteos, maduración y, por último, molturación y refinado) y lodo de la depuradora de aguas residuales Sur (Madrid).

Determinándose al iniciar y al finalizar el experimento los siguientes parámetros: humedad, materia orgánica total, carbono orgánico oxidable, calcio, sodio, potasio, magnesio y pH según métodos estándar (American Public Health Association 1975). El N-NH⁺₄ y el N-NO₃ se midieron con la técnica de Bremner (1965). El fósforo se determinó según Olsen (1954) y, por último, el nitrógeno total se analizó con el método Kjeldahl (Hesse 1971).

Para estudiar la población de lombrices se realizó un muestreo al azar utilizando un marco de 0.5 m x 0.5 m de lado y una profundidad de 20 centímetros. El marco se situó en el centro del lecho para eliminar el efecto "borde" (Atlavinyte 1968; Allen 1990).

Asimismo, en el desarrollo de este experimento a escala semiindustrial se efectuó un control de la evolución de los metales pesados en el "vermicompost" a lo largo del tiempo, utilizando el método de digestión ácida (HNO₃ - HClO₄) y analizando los metales pesados por espectrometría de plasma (Espectrapan IV) (AOAC 1984).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en un primer estudio basado principalmente en comprobar la supervivencia de la lombriz en distintas mezclas de estiércol con lodos Nutror y Sur, se recogen en las Figs. 1, 2, y 3, en que se observa un rápido descenso del número de lombrices en el caso de las mezclas con lodo Sur, debido a que este compuesto no estaba previamente compostado (Bouwman y Reinecke 1991).

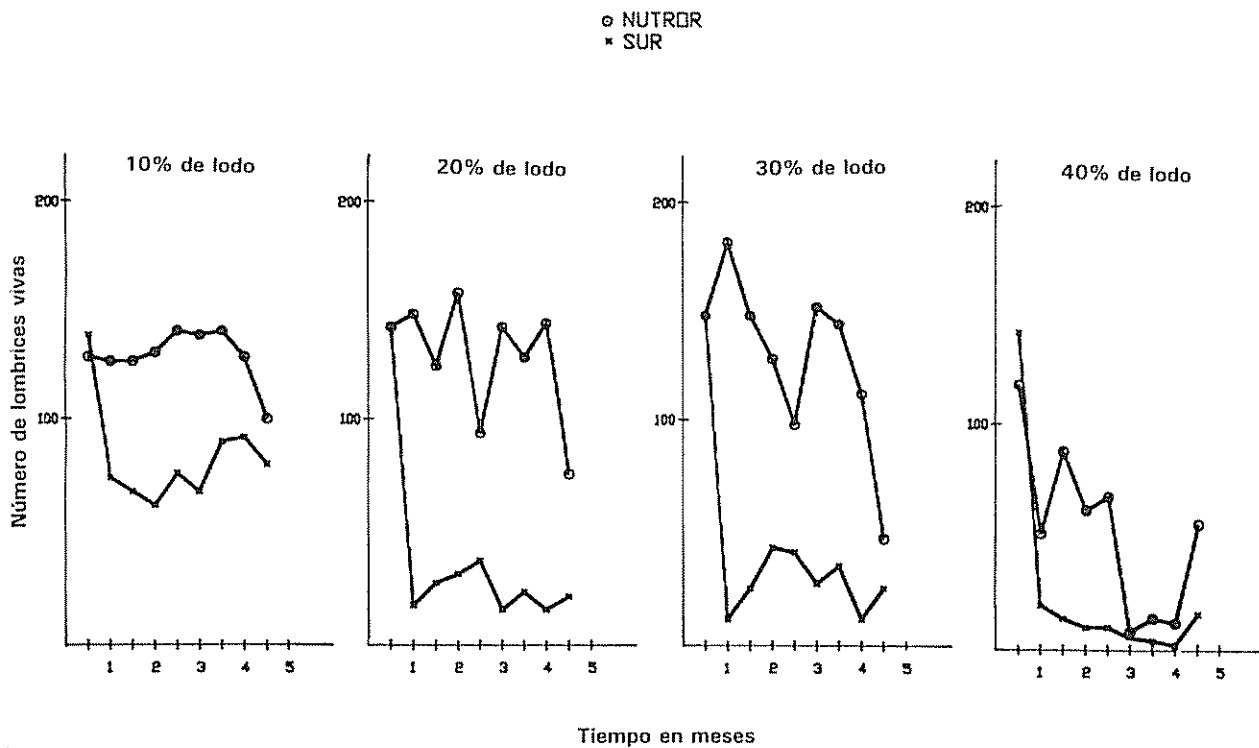


Fig. 1. Número de lombrices en función del tiempo para las mezclas lodos-estiércol, correspondientes a las proporciones de lodos de 10, 20, 30 y 40 por ciento.

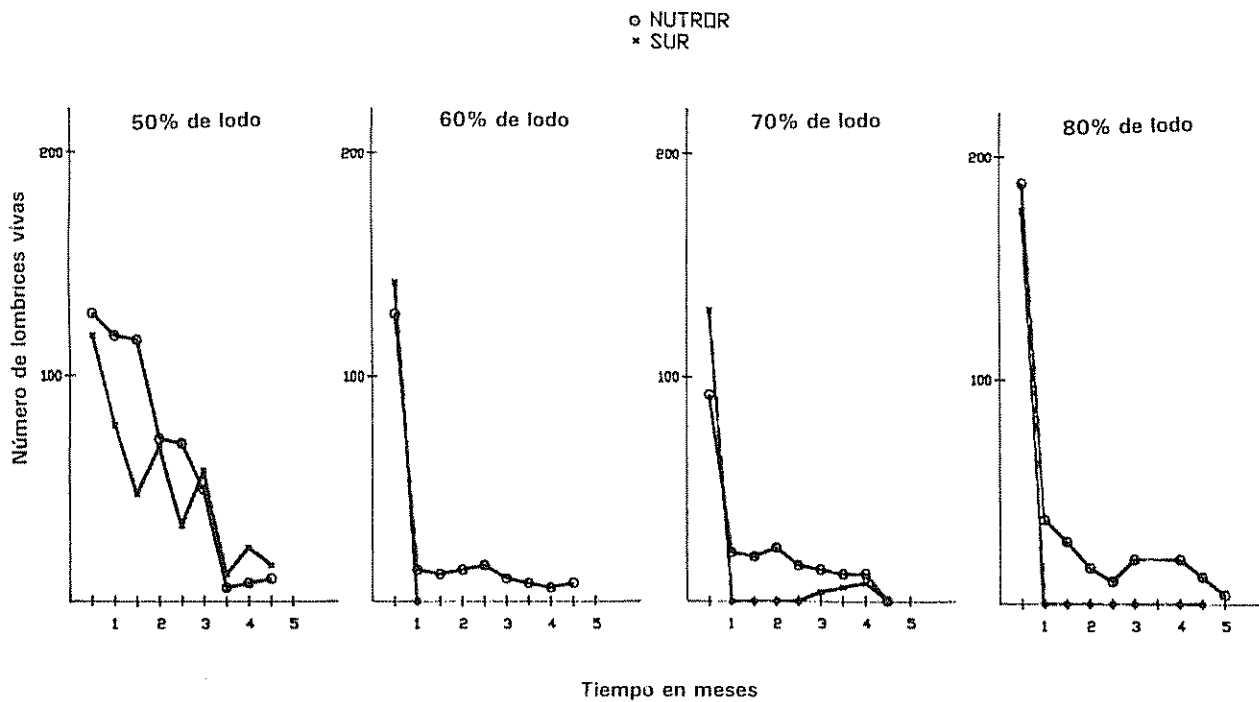


Fig. 2. Número de lombrices en función del tiempo para las mezclas lodos-estiércol, correspondientes a las proporciones de lodos de 50, 60, 70 y 80 por ciento.

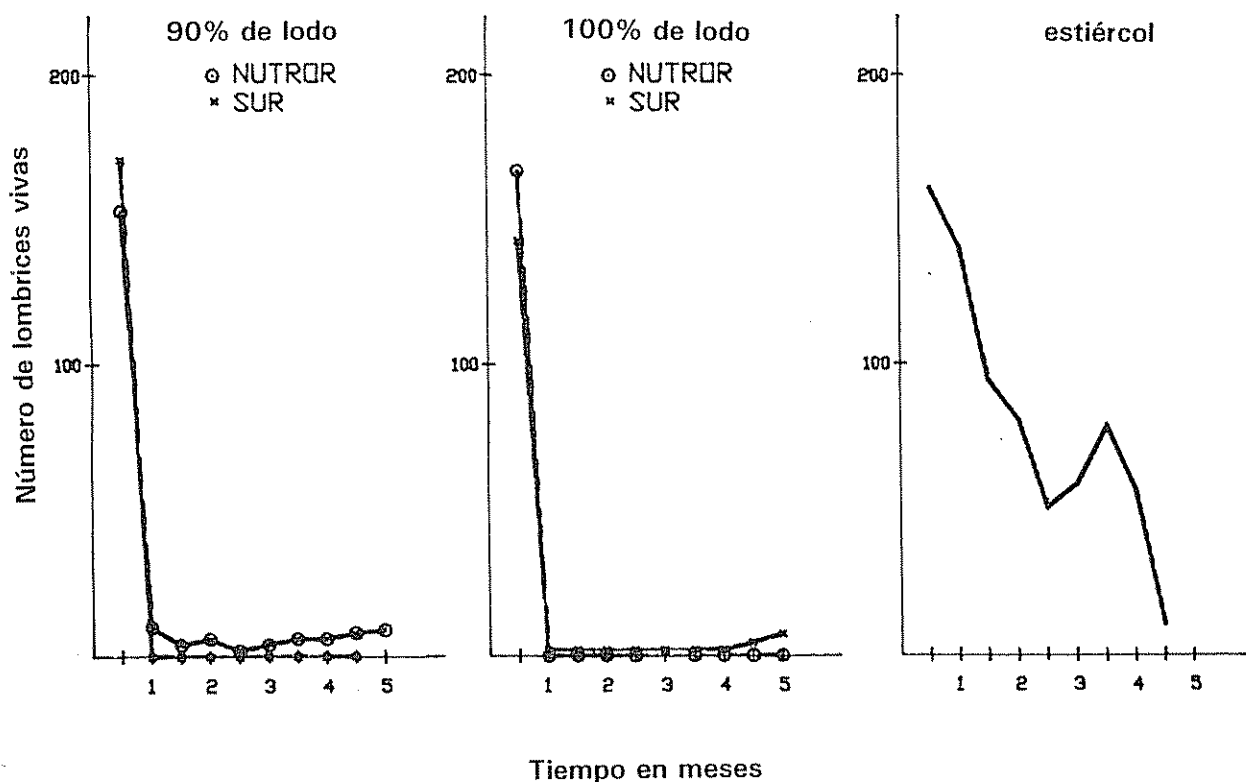


Fig. 3. Número de lombrices en función del tiempo para las mezclas lodos-estiércol, correspondientes a las proporciones de lodos de 90 y 100% y estiércol.

Asimismo se aprecia que, hasta en mezclas con el 50% de lodo compostado, la supervivencia de la lombriz es similar al testigo de estiércol y que cuando se sobrepasa esta proporción de lodo la supervivencia desciende drásticamente, presumiblemente debido a una falta de aireación del medio (Haines y Uren 1990).

El descenso del número de lombrices en el testigo, a base de estiércol, se explica por la imposibilidad para mantener las condiciones óptimas de crecimiento en pequeños contenedores.

En el Cuadro 2 se muestra la regresión lineal obtenida de las ecuaciones: $Y = A + BX$ para las mezclas de 20 y 30 por 100 de estiércol con lodo Nutror e $Y = A + Bex(-KX)$ para las demás mezclas de estiércol con lodo Nutror y Sur. A partir de las mezclas del 50% no se ha realizado el análisis estadístico, ya que hubo problemas de aireación del medio en el que se realizó el experimento.

Cuadro 2. Regresión lineal.

	A	B	K	R ²
10% Nutror	133.04	66.95	0.18	0.606
Sur	79.25	124.79	0.06	0.899
20% Nutror	179.86	0.61	-	-
Sur	18.81	189.42	0.05	0.920
30% Nutror	193.68	-0.81	-	-
Sur	23.56	185.99	0.05	0.881
40% Nutror	13.99	176.53	0.03	0.860
Sur	-2.32	215.02	0.05	0.920
50% Nutror	-72.59	263.94	0.01	0.950
Sur	13.04	182.35	0.03	0.940

Teniendo en cuenta los resultados de este primer experimento, se repitió el mismo diseño a escala semiindustrial utilizando los mismos lodos pero, en este caso, se compostó previamente el de Sur, desecándolo durante tres meses y procediendo a una

fermentación aeróbica termófila (62°C - 72°C) por volteos periódicos sin agente estructurante.

Los parámetros que sufrieron cambios principalmente fueron:

Temperatura

La temperatura media a 50 cm ascendió paulatinamente durante la primera semana hasta alcanzar 49°C, para descender ligeramente a continuación como consecuencia del volteo. Nuevamente tuvo lugar una serie de pequeñas elevaciones y descensos, siempre por encima de los 50°C hasta el último mes en que se alcanzaron 68°C, su máximo valor.

Carbono orgánico

En el sistema de volteo se observó una disminución muy lenta del contenido de materia orgánica, con fluctuaciones, debido al propio sistema de volteo, ya que después las condiciones de la pila experimentan un cambio apreciable, reflejándose en los valores de los parámetros.

Nitrógeno total

El contenido de nitrógeno en los primeros días del compostaje mantiene valores aceptables durante el primer mes, disminuyendo bruscamente a partir del segundo mes. Esta disminución coincide con un aumento de la temperatura de la pila, lo que indica una volatilización de los grupos amoniacales.

pH

Existe una evolución del pH de 5.6 a 7.2 como consecuencia de la degradación de ácidos orgánicos y el efecto tampón de la materia orgánica.

Humedad

La humedad descendió de forma ligera pero continua desde un valor de 54% hasta alcanzar valores mucho más bajos al finalizar el compostaje.

Los resultados demuestran (Cuadro 3) que en mezclas de estiércol y lodo, en que este último supera el 50%, se produce un descenso drástico del número de lombrices del medio, no existiendo diferencias en la supervivencia debido al lodo, pues ambos habían sido compostados (Shipitalo *et al.* 1988).

Cuadro 3. Supervivencia de la lombriz (número de lombrices) y desviación estándar (\pm).

Tratamiento (porcentaje de lodo)	Lombrices en <i>compost</i> Sur	Lombrices en <i>compost</i> Nutror	Media
0	1 044(6.0)	1 044(6.0)	1 044
15	891(161.4)	830(254.3)	860
30	806(284.0)	960(369.6)	880
50	664(180.5)	757(81.9)	710
75	500(132.3)	465(234.5)	483
100	450(56.8)	495(169.3)	472

Nota: Porcentaje de lodo (A):*; Tipos de lodo (B):NS; Interacción (AB):NS; *: Significativo al 5%; NS: No significativo.

Se realizó el análisis estadístico de la variancia, comprobándose que solamente es significativo ($P < 0.05$) el efecto del porcentaje de lodo y no significativo ($P > 0.05$) los distintos tipos de lodos y la interacción porcentaje de lodo y tipo de lodo.

Durante este experimento a escala semiindustrial se efectuó un control de la evolución de los metales pesados totales en el "vermicompost" a lo largo del tiempo y los resultados medios de las distintas mezclas de lodos con otros residuos orgánicos se recogen en el Cuadro 4. Se aprecian ligeras variaciones en uno y otro sentido entre los valores iniciales y finales después de seis meses de

tratamiento, no observándose una clara incidencia del proceso de vermicultura sobre el contenido de metales pesados en el medio (Edwards 1980; Morgan y Morgan 1990, 1991).

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de covariancia -considerando covariable el valor inicial de cada metal pesado. Los resultados muestran que solamente es significativo ($P < 0.05$) el efecto de los lodos para los metales pesados Zn y Cd con una probabilidad de 0.0202 y 0.0013, respectivamente. El efecto de los metales pesados solamente es significativo para el metal pesado Cu con una probabilidad de 0.0021.

Cuadro 4. Evolución de los metales pesados totales en el "vermicompost" con el tiempo (seis meses) y desviación estándar(\pm).

Metales Pesados	Valores medios de mezclas con lodo Nutror (ppm)		Valores medios de mezclas con lodo Sur (ppm)	
	Inicial (ppm)	Final (ppm)	Inicial (ppm)	Final (ppm)
Ni	72(24.2)	63(11.5)	69(13.0)	59(5.3)
Cu	649(23.3)	579(22.5)	2 141(169)	1 671(130)
Cr	517(38.3)	537(172)	200(47.7)	226(50.0)
Zn	1 070(81.8)	1 149(52.0)	1 934(105)	1 788(118)
Pb	620(85.4)	717(61.2)	1 062(60.5)	1 012(251)
Cd	25(8.9)	18(4.0)	115(44.2)	93(2.6)

En el Cuadro 5, se recogen los resultados sobre composición del estiércol y de los dos lodos utilizados en el experimento al inicio y al final del compostaje. Como se puede observar, las características agrónomicas han mejorado en el humus obtenido de la transformación de residuos orgánicos por medio de la lombriz roja de California, aumentando la riqueza en potasio y en fósforo.

El "vermicompost" es un fertilizante de liberación lenta de los elementos nutritivos y tiene la

capacidad de suministrar gradualmente los elementos químicos en el suelo, haciendo durar los efectos a lo largo del tiempo. También tiene una elevada presencia de flora bacteriana y, como puede contener metales pesados tóxicos, no es aconsejable en cultivos destinados a la alimentación humana, y su utilización es más frecuente en floricultura.

Por otra parte, el "vermicompost" es rico en enzimas y microorganismos procedentes del intestino de la lombriz y en auxinas, que favorecen el crecimiento de las plantas (Shipitalo *et al.* 1988).

Cuadro 5. Análisis del estiércol, lodos Nutror y Sur al inicio y al final del compostaje (seis meses).

	Estiércol		Lodo Sur		Lodo Nutror	
	I	F	I	F	I	F
Humedad(%)	19.5	39.4	14.7	51.5	12.5	56.1
Materia orgánica total(%)	51.0	44.9	50.5	37.5	43.6	30.2
Carbono oxidable(%)	18.0	9.5	20.5	17.3	19.5	13.5
N-NH ₄ (ppm)	511.0	73.3	19.0	195.1	660.0	178.6
N-NO ₃ (ppm)	1688.0	601.3	866.0	233.9	973.0	688.7
N-total(%)	1.5	0.8	2.1	1.7	2.9	1.9
pH	7.7	7.2	7.2	6.5	7.1	6.2
Peso E. (g/l)	493.0	-	743.0	-	716.0	-
P ₂ O ₅ (%)	1.0	2.1	2.7	3.0	4.0	5.5
Na(%)	0.015	0.1	0.08	0.16	0.01	0.14
K ₂ O(%)	0.5	1.9	0.04	0.64	0.06	0.8
CaO(%)	0.76	4.9	0.69	6.4	0.74	6.8
MgO(%)	0.14	0.9	0.12	1.6	0.12	1.0

I Inicial

F Final vermicompostado

Se ha estudiado la desviación estándar (Cuadro 6) y el análisis de covariancia -considerando covariable el valor inicial de cada parámetro. Los resultados demuestran en los lodos el efecto significativo ($P < 0.05$) para la humedad, materia orgánica total, carbono oxidable, N-NO₃, P₂O₅,

Na, CaO y MgO con una probabilidad de 0.005, 0.0503, 0.0011, 0.0002, 0.000, 0.0483, 0.0014 y 0.0507, respectivamente. El efecto de los parámetros solamente es significativo en el Carbono oxidable y N-NO₃, con una probabilidad de 0.0126 y 0.0452, respectivamente.

Cuadro 6. Desviación estándar del análisis de estiércol, lodos Nutror y Sur al inicio y al final del compostaje (\pm).

	Estiércol		Lodo Sur		Lodo Nutror	
	I	F	I	F	I	F
Humedad(%)	3.0	4.6	0.9	3.9	2.0	2.3
Materia orgánica Total (%)	1.0	5.2	5.7	5.7	3.0	3.0
Carbono oxidable (%)	3.1	1.6	5.0	2.2	2.1	1.0
N-NH ₄ (ppm)	18.5	2.8	378	15.0	975	24.2
N-NO ₃ (ppm)	151	92	119	48.7	71.9	13.6
N-total(%)	1.2	0.7	1.6	0.8	0.4	1.1
pH	0.1	0.3	0.3	0.4	0.4	0.2
C.E (mmhos/cm)	0.4	0.3	0.1	0.3	0.3	0.1
P ₂ O ₅ (%)	0.1	0.3	0.1	0.3	0.2	0.2
Na (%)	0.01	0.06	0.03	0.02	0.01	0.02
K ₂ O(%)	0.1	0.3	0.02	0.07	0.04	0.3
CaO(%)	0.03	0.4	0.04	0.5	0.07	0.4
MgO(%)	0.04	0.3	0.02	0.3	0.02	0.2

Nota: I Inicial

F Final vermicompostado

CONCLUSIONES

Del estudio realizado sobre la supervivencia de la lombriz roja de California en la transformación de residuos sólidos proporcionados por dos depuradoras de Madrid, lodo Sur y lodo Nutror, se comprobó un rápido descenso del número de lombrices en las mezclas con lodo Sur, debido a que este residuo no estaba compostado. Por lo tanto es necesario utilizar siempre lodos compostados para su transformación en humus de lombriz y aprovechamiento agrícola.

La supervivencia de la lombriz roja era similar al testigo de estiércol cuando las mezclas con lodos eran inferiores al 50%, ya que cuando se supera esta proporción de lodo, ésta desciende.

Existió un descenso del número de lombrices del testigo de estiércol por la imposibilidad de mantener las condiciones óptimas de crecimiento en pequeños contenedores.

En el segundo experimento a escala semi-industrial, en el que los lodos fueron previamente compostados, se estudió principalmente el grado de supervivencia de la lombriz roja en distintas mezclas de lodo con estiércol, comprobándose que no existían diferencias significativas.

Al evaluar la influencia de los metales pesados en el "vermicompost" a lo largo del tiempo, no se observó una clara incidencia del proceso de vermicultura sobre el contenido de metales pesados en el medio.

Por último, las características agrónomicas se ven mejoradas en el humus obtenido de la transformación de residuos orgánicos por medio de la lombriz roja de California, aumentando la riqueza en potasio y fósforo.

LITERATURA CITADA

- ALLEN, H P. 1990. Influence of cultivation system on earthworm populations. *Agric. Eng. Silsoe: Institution of Agricultural Engineers* 45(1):26-27
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION 1975. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington D C
- AOAC. 1984. Official methods of analysis of A O A C. Washington
- ATLAVINYTE, D. 1968. Mobility of nutritive substances in relation to earthworm numbers in the soil. *Pedobiología* 13:344-352
- BOUWMAN, H.; REINECKE, A J. 1991. A defined medium for the study of growth and reproduction of the earthworm *Eisenia fetida*. *Biol. Fertil. Soils* 10(4):285-289.
- BREMNER, J M. 1965. Methods of soil analysis. II. Chemical and microbiological properties. *Agronomy* 9:1179-1237
- DARWIN, C R. 1981. The formation of vegetable mould through the action of worms. 1st ed. London, John Murray. 250 p.
- EDWARDS, C A. 1980. Effects of earthworm inoculation upon the root growth of direct drilled cereals. *Journal of Applied Ecology (Inglaterra)* 17:533-543.
- EDWARDS, C A; NEUHAUSER, ?; EDWARDS F. 1988. Earthworm in waste and environmental management. The Hague. SPB Academic v. 8, p. 391
- HAINES, P J; UREN, N C. 1990. Effects of conservation tillage farming on soil microbial biomass, organic matter and earthworm populations, in north-eastern Victoria. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* 30(3):365-371
- HAIMI, J; HUTHA, V. 1990. Effects of earthworms on decomposition processes in raw humus forest soil: A microcosm study. *Biol. Fertil. Soils* 10(3):178-183
- HESSE, P R. 1971. Total nitrogen the Kjeldahl process a textbook of soil chemical analysis. Great Britain
- LAVELLE, P. 1988. Earthworm activities and the soil system. *Biol. Fertil. Soil* 6(3):237-251.
- MORGAN, J E; MORGAN, A J. 1990. The distribution of cadmium, copper, lead, zinc and calcium in the tissues of the earthworm *Lumbricus rubellus* sampled from one uncontaminated and four polluted soils. *Oecologia* 84(4):559-566.
- MORGAN J E; MORGAN, A J. 1991. Differences in the accumulated metal concentrations in two epigeic earthworm species (*Lumbricus rubellus* and *Dendrodrilus rubidus*) living in contaminated soils. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 47(2):296-301.
- OLSEN, S R. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. Circular. USDA no. 939
- RAFATS, J. 1988. Earthworms: Raising, uses, beneficial aspects 1979-1988. Quick Bibliographic Services. USDA National Library. The library 88-87:32.

SHIPITALO, M.J.; PROTZ, R.; TOMLIN, A.D. 1988. Effects of diet on the feeding and casting activity of *Lumbricus terrestris* and *Lumbricus rubellus* in laboratory culture. Soil Biol. Biochem. 20(2):233-237.

SIMEK, M.; PIZL, V. 1989. The effects of earthworms on nitrogenase activity in soil. Biol. Fertil. Soils 7(4):370-373.

Cambios en las propiedades humectantes de suelos sometidos a diferentes manejos

A. Ellies*, R. Grez*, C. Ramirez*

RESUMEN

En dos Hapludands, uno sometido a manejo pecuario y otro forestal, y en un Palehumult con cultivos agrícolas, se evaluaron las propiedades humectantes y la estabilidad de los agregados al agua. Se midió la capacidad de humectación sobre la superficie de los microagregados y en depósitos de la solución acuosa del suelo sobre vidrio. En los tres sitios, las muestras de suelo provenientes del bosque nativo original del lugar, presentaron mayor resistencia a la humectación o ángulo de contacto, disminuyendo su efecto en los sitios intervenidos por más tiempo o sometidos a mayor uso, y mayor capacidad de humectación. Este aumento se debe a cambios cualitativos y cuantitativos de la materia orgánica, originados por el manejo del suelo. Junto con el aumento de la humectación, disminuye la estabilidad de los agregados al agua. Las mediciones directas de las propiedades humectantes sobre el suelo e indirectas sobre depósitos en vidrios, entregan similares conclusiones en relación a la estabilidad de los microagregados.

SUMMARY

In two Hapludands soils, one submitted to pasture and the other to forestry management, and a Palehumult with crops, the wetting properties and water stability of soil aggregates were evaluated. The wetting properties were measured on the surface of microaggregates and on deposition of soil solution on glass. In the three sites, soil samples coming from original native forest showed the highest wetting resistance or contact angle; these effects were smaller in the soils used for longer times and intensive management. This increase in wetting is attributed to qualitative and quantitative changes in the organic matter, associated with the soil management. In all cases of increase of the contact angle, there was a decrease of the water stability of aggregates. Both the measurements of wetting properties of aggregates and the deposition of soil solutions on glass produced similar conclusions.

INTRODUCCION

Entre las propiedades que sirven como indicadores del potencial de uso de un suelo se encuentran la estructura y la estabilidad. Representan la síntesis de los atributos que repercuten sobre la productividad y grado de alteración del recurso. El uso agropecuario del suelo modifica su estructura, dependiendo la magnitud de estos cambios del tipo de manejo y del tiempo de utilización del suelo, desde su incorporación a la actividad silvoagropecuaria (Ellies *et al.* 1993, 1994).

Múltiples trabajos sobre el efecto de los componentes del suelo en la estabilidad estructural, destacan la estrecha relación existente entre ésta y el contenido de materia orgánica (Hofman *et al.* 1974).

El efecto agregante de la materia orgánica se basa en una especie de formación de estructura reticular alrededor de los componentes inorgánicos, mediante hifas de hongos y macromoléculas en forma de micelas (Forster 1979), así como también por la unión con grupos -COOH, CO y OH. El efecto agregante se acentúa con la polaridad de estas uniones (Hamblin y Greenland 1977). A pesar del conocido efecto agregante de la materia orgánica, es difícil demostrarlo prácticamente con enmiendas orgánicas (Becher 1985), ya que el efecto estabilizante es alto sólo si el sustrato orgánico se mineraliza fácilmente; en cambio, la materia orgánica de difícil descomposición, apenas afecta la microagregación (Fortun y Fortun 1989).

La destrucción hídrica de los agregados del suelo se debe principalmente a la energía cinética del impacto del agua y a su escurrimiento superficial. El grado de destrucción de la estructura depende de la acción contrarrestante de las propiedades de materia orgánica, que varían constantemente con los

¹ Recibido el 17 de enero de 1995

² Financiado por el proyecto FONDECYT 1940889 y DID-UACH S-94-4 Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia.

procesos de mineralización. Pequeñas cantidades de sustancias orgánicas activas incrementan la estabilidad de los agregados al agua (Giovannini *et al.* 1983).

La estabilidad de los agregados al agua se puede inferir a partir de tamizados en seco y en húmedo, que permiten determinar la variación del tamaño medio de los agregados (Hartge y Horn 1992). La resistencia de un agregado a su destrucción por la adsorción del agua, depende de la afinidad que tengan sus componentes por ésta. Los componentes minerales del suelo se humectan fácilmente por su alta tensión superficial, en relación al aire. Por ello, la resistencia a la humectación en los suelos se debe principalmente a los compuestos orgánicos (Jamison 1942; Letey *et al.* 1969; Letey 1972). La absorción de agua de distintos suelos de igual porosidad depende, en primera instancia, del ángulo de contacto entre las fases sólida, líquida y gaseosa de ellos (Hartge 1959). El ángulo de contacto que forma una gota de agua, y que tiene por vértice la unión entre las tres fases mencionadas, constituye una evaluación microscópica ideal de una situación de equilibrio termodinámico (Wolf 1957).

Por lo anterior, adquieren interés las investigaciones de los fenómenos de superficie, capaces de aportar antecedentes que expliquen la estabilidad estructural. La capacidad de humectación disminuye con un pH bajo y con la presencia de materia orgánica fácilmente degradable. Debido a ello se han encontrado, en determinados suelos, altas correlaciones entre su resistencia a la humectación y la estabilidad de sus agregados al agua (Bachmann 1988).

Las condiciones microclimáticas de los suelos del centro-sur de Chile se alteraron con la desaparición del dosel arbóreo original (Weinberger 1973). La simplificación de la estructura vegetativa modifica el monto y la calidad del aporte de materia orgánica al suelo y, con ello, se provocan cambios en la estructura edáfica (Ramírez *et al.* 1993; Ellies y Hartge 1990). Como no existen informaciones sobre la relación entre humectación y manejo de estos suelos, se estimó conveniente analizar los efectos del manejo sobre la estabilidad de los agregados al agua y sobre la humectación en algunos suelos del centro-sur de Chile.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron las propiedades humectantes y la agregación de tres suelos, ubicados en distintas zonas agroclimáticas del centro-sur de Chile (Montaldo 1973). El uso del suelo en cada sitio es variado y se conocen su utilización y manejo: Uno de los suelos (Serie Valdivia), ubicado en San José de la Mariquina, está sujeto a manejos pecuarios (secuencia 1); el segundo suelo (Serie Malihue) se ubica en Loncoche (secuencia 2) y está sometido a un manejo forestal (secuencia 2) y el tercero (Serie Cudico) está ubicado cerca de la ciudad de La Unión y sujeto a cultivos agrícolas (secuencia 3). En el Cuadro 1 se describen los diferentes usos para cada sitio. Los suelos de los primeros dos sitios son Typic Hapludands y el tercero, Andeptic Palehumult. En todos los casos, la vegetación boscosa original correspondía al Bosque de Roble-Laurel-Lingue (San Martín *et al.* 1991).

Cuadro 1. Síntesis del historial de uso de los suelos.

Tiempo desde la incorporación al uso	Sistema	Uso actual	Denominación
Secuencia 1. Manejo pecuario			
	Sin uso	Bosque nativo secundario	Bosque nativo
1988	Roce bueyes	Pradera	Pradera nueva
1940	Roce máquinas	Desde 1955 Pradera mejorada	Pradera-lechería
1910	Roce con fuego	Pradera degradada y pisoteada	Corredor
1872	Roce con fuego	Rotación Cultivos con pradera	Rotación cultivos
Secuencia 2. Manejo forestal			
	Sin uso	Bosque nativo secundario	Bosque nativo
1940	Roce con fuego	<i>Pinus radiata</i> primera rotación	Pino 1° rotac.
1940	Roce con fuego	<i>Pinus radiata</i> segunda rotación	Pino 2° rotac
Secuencia 3. Manejo agrícola			
	Sin uso	Bosque nativo secundario	Bosque nativo
1900	Roce con fuego	Rotación avena con pradera	Rotación de cultivos
1900	Roce con fuego	Cultivo muy frecuente	Cultivo permanente

En cada uno de los lugares seleccionados, se enterraron, en noviembre de 1992, 20 portaobjetos de vidrio a 5, 15 y 25 cm de profundidad, con el propósito de interceptar, en forma de películas homogéneas, los residuos orgánicos de la solución del suelo. Este método se basa en la afinidad existente entre el vidrio y los compuestos orgánicos en solución. También se enterraron 10 portaobjetos de vidrio en macetas con suelos provenientes de los distintos manejos. Estas muestras de suelo, desprovistas de cubierta vegetal, quedaron bajo condiciones de invernadero siendo regadas periódicamente. Sobre otros 10 portaobjetos se espolvorearon muestras de suelo, por tipo de manejo y estrata, en forma de una capa monogranular de microagregados previamente tamizados en cedazos con 63 μm a 38 μm de diámetro de poro. Los gránulos fueron adheridos al portaobjetos con una cinta adhesiva.

En los experimentos de invernadero y de campo, se desenterraron cinco de los vidrios en setiembre de 1994, y, sobre ellos, se determinaron las propiedades humectantes de la materia orgánica adherida, mediante el ángulo de contacto. Para determinar éste, se colocaron hasta 10 gotas de agua de 0.02 cm^3 sobre los vidrios. La fijación de los ángulos de contacto se efectuó con una lupa de campo de visión horizontal (*contact angle meter*), mediante un gonímetro correspondiente a una línea tangencial visible por el ocular, que tenía como origen la intersección de la fase agua/aire/sólido y se proyectaba como una tangente a la superficie de la máxima curvatura aire/agua (Burckhardt 1985).

La agregación de las estratas de los suelos con sus manejos, se evaluó mediante tamizados en seco y húmedo, midiendo la distribución de las fracciones de agregados y la variación del diámetro medio de los agregados (Hartge y Horn 1992).

RESULTADOS

En las Figuras 1 a 3 se presentan los promedios de los ángulos de contacto y la variación de diámetro medio de los agregados para las tres secuencias de manejo de suelo (manejos agropecuario, forestal y agrícola). Cada figura se descompone en cuatro subfiguras y en la sección A se presentan los ángulos de contacto medido sobre los microagregados; en la sección B, los ángulos de las películas de los

depósitos de solución de suelo sobre los portaobjetos enterrados en condiciones de invernadero; en la sección C, estos mismos ángulos sobre los depósitos formados en los portaobjetos enterrados en los suelos en condiciones de campo; y en la sección D, la variación del diámetro medio de los agregados.

Los ángulos de contacto de la estrata superficial del suelo en los microagregados de la secuencia 1 (pecuaria) presentan un orden de menor a mayor humectación, que coincide con la cronología de uso del suelo desde su incorporación a la actividad agropecuaria (Fig. 1, Sección A). En la secuencia 2 (forestal), la humectación de la estrata superficial se incrementa con el número de rotaciones con pino (Fig. 2, Sección A), y en la secuencia 3 (agrícola), la humectación aumenta en la estrata superficial, cuando el suelo ha sido sometido a araduras frecuentes (Fig. 3, Sección A).

En las tres secuencias de uso de suelo, la humectación se incrementa en profundidad. Es decir, la resistencia a la humectación disminuye con la reducción en el contenido de la materia orgánica observada en el mismo sentido (Cuadro 2).

Cuadro 2. Contenido de materia orgánica (%) de los tres suelos con sus distintos manejos.

Profundidad (cm)	5	15	25
Secuencia 1. Manejo pecuario			
Bosque nativo	24.3	14.21	3.8
Pradera nueva	19.6	14.6	12.7
Pradera lechería	16.0	13.8	5.4
Corredor	12.1	8.9	6.0
Rotación cultivos	11.7	10.2	9.5
Secuencia 2. Manejo forestal			
Bosque nativo	37.8	23.5	9.0
Pino 1° Rotación	19.7	14.5	8.7
Pino 2° Rotación	23.6	16.8	17.7
Secuencia 3. Manejo agrícola			
Bosque nativo	12.6	5.2	.7
Rotación de cultivos	7.5	7.1	5.0
Cultivo permanente	6.4	6.2	3.5

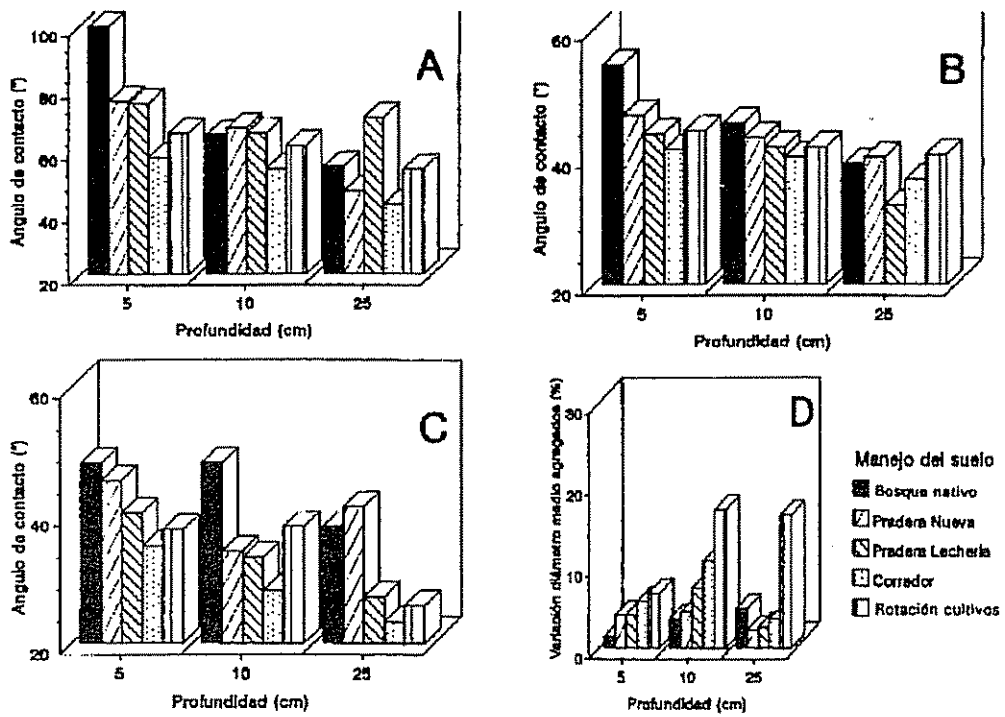


Fig. 1. Efecto del manejo pecuario sobre la humectación y estabilidad de agregados al agua en un suelo Hapludand: a) Angulos de contacto sobre microagregados; b) ángulos de contacto sobre depósitos de soluciones en condiciones de invernadero; c) ángulos de contacto sobre depósitos de soluciones formados en terreno; d) variación en el diámetro medio de los agregados.

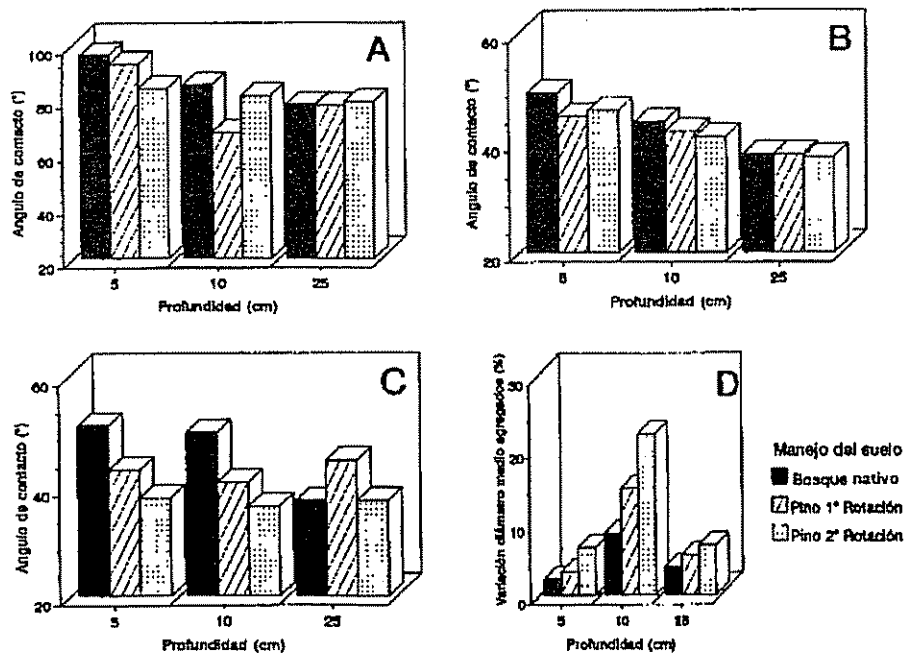


Fig. 2. Efecto del manejo forestal sobre la humectación y estabilidad de agregados al agua en un suelo Hapludand: a) Angulos de contacto sobre microagregados; b) ángulos de contacto sobre depósitos de soluciones en condiciones de invernadero; c) ángulos de contacto sobre depósitos de soluciones formados en terreno; d) variación en el diámetro medio de los agregados.

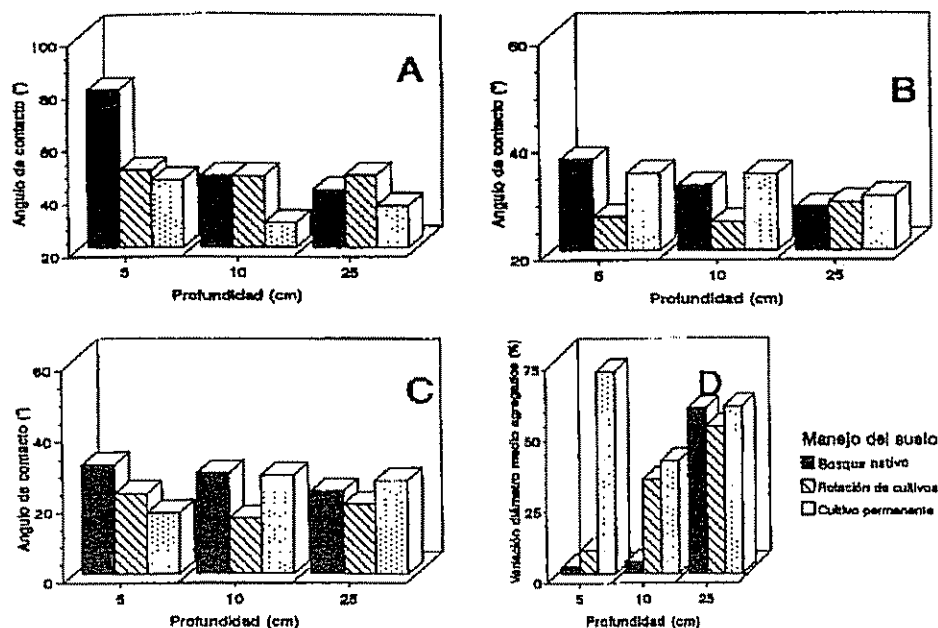


Fig. 3. Efecto del manejo agrícola sobre la humectación y estabilidad de agregados al agua en un suelo Pelehúmult: a) Ángulos de contacto sobre microagregados; b) ángulos de contacto sobre depósitos de soluciones en condiciones de invernadero; c) ángulos de contacto sobre depósitos de soluciones formados en terreno; d) variación en el diámetro medio de los agregados.

La secuencia en orden decreciente de los ángulos de contacto equivalente a un incremento en la humectación de los microagregados se repite, en gran medida, sobre los precipitados de soluciones de suelo formados sobre los portaobjetos tanto en condiciones de invernadero (Sección B, Figs. 1 a 3) y de campo (Sección C, Figs. 1 a 3).

La variación del diámetro medio de los agregados después de un tamizado en seco y bajo agua, se incrementa para los tres suelos a medida que aumenta la humectación. Por ende, los agregados son menos estables al agua cuando la humectación del suelo incrementa y el contenido de la materia orgánica tiende a disminuir (Sección D, Figs. 1 a 3).

Finalmente, en el Cuadro 2 se presenta para los tres suelos y sus distintos manejos, el contenido de la materia orgánica. Esta disminuye en los suelos utilizados por un período más prolongado o que fueron sometidos a un uso más intenso.

DISCUSIÓN

De los resultados de esta investigación se desprende que los ángulos de contacto disminuyen

junto con las reducciones de la materia orgánica y de la estabilidad de los agregados al agua. Las tres metodologías con que se cuantifica la humectación de los suelos, sujetos a distinto manejo, indican que la máxima resistencia a la humectación siempre se presenta en sitios bajo bosque nativo, lo que equivale a los suelos menos intervenidos. El ángulo de contacto disminuye y, con ello, aumenta la capacidad de humectación a medida que el uso del suelo se prolonga por más tiempo o que la intensidad o frecuencia de uso, se incrementa.

La materia orgánica es determinante en la magnitud de la resistencia a la humectación de los suelos, aun cuando su contenido no cambia substancialmente en cada uno de los tres distintos manejos. Ello permite inferir que los cambios en la humectación se deben más que nada a cambios cualitativos de la materia orgánica y que esto constituye el factor determinante en las propiedades humectantes de los suelos. Esta observación se destaca en especial en la secuencia 1, donde el suelo superficial del sitio bajo bosque nativo presenta el mayor contenido de carbono orgánico y, también, el mayor ángulo de contacto. Al eliminar el bosque nativo se reduce levemente el contenido de materia orgánica pero la reducción de los ángulos de contacto sobre los microagregados, es muy drástica (Fig. 1, Sección A).

Aparentemente, la capacidad de humectación de los suelos está en estrecha relación con las fracciones lábiles de materia orgánica. La humectación decrece con aportes orgánicos altos y frecuentes al suelo.

La relación directa entre los ángulos de contacto y el contenido de la materia orgánica se destaca más en las estratas profundas. Sin embargo, en las secuencias 1 y 3 para los manejos de rotación de cultivos y cultivos permanentes -es decir sitios con una frecuente inversión del suelo mediante araduras-, los ángulos de contacto se mantienen en profundidad. La reducción del ángulo de contacto en el suelo con una segunda rotación de pino (secuencia 2), a pesar de su alto contenido en materia orgánica, se explica más bien por los cambios cualitativos de ésta. Al eliminar el bosque nativo reemplazándolo por otro artificial, se modifica la naturaleza y calidad del aporte de materia orgánica al suelo (Ramírez *et al.* 1993), ya que al mismo tiempo que disminuyen las especies presentes, éstas corresponden en su mayoría a malezas arbustivas (Ramírez *et al.* 1984). Aparentemente, esta modificación trasciende los ángulos de contacto recién con la segunda rotación.

La magnitud de los valores de los ángulos de contacto de las secuencias pecuaria y forestal semejantes entre sí, se diferencian de la secuencia agrícola, debido seguramente a que los dos primeros suelos son Hapludands y, en cambio, el tercero es un Palehumult. Por otro lado, este último presentaba el uso más intensivo en cuanto a inversiones del horizonte superficial. Esto implica entonces que la capacidad de humectación depende más del tipo que del tiempo de uso del suelo.

También merece destacarse la estrecha relación que existe entre la estabilidad estructural y la humectación, ya que al carecer los suelos de gran afinidad por el agua, sus agregados son más estables a la dispersión y, por ende, a la erosión. Sin embargo, una resistencia extrema a la humectación no favorece el desarrollo vegetal, pero sí se requiere cierto grado de resistencia a la humectación para mantener la matriz porosa o el sistema de agregados del suelo. Es interesante destacar que la estabilidad de los agregados del suelo al agua, está más estrechamente ligada a los ángulos de contacto que al contenido total de materia orgánica. Esto parece lógico, porque para dispersar las partículas del suelo, ellas deben tener necesariamente afinidad con el agua.

La determinación del ángulo de contacto sobre microagregados y precipitaciones de soluciones del

suelo sobre portaobjetos permite conclusiones semejantes. Aun cuando los ángulos no son de la misma magnitud, la tendencia en tamaño tiende a ser similar para las capas superiores del suelo y, también, entre los microagregados y los ángulos sobre depósitos de estratas específicas mantenidas en condiciones de invernadero. Esto permite inferir que las sustancias hidrófobas del suelo son móviles.

CONCLUSIONES

La resistencia a la humectación de un suelo disminuye a medida que su uso se prolonga en el tiempo o cuando ha sido sometido frecuentemente a inversiones.

Existe estrecha relación entre resistencia a la humectación y contenido de materia orgánica. Sin embargo pesan más los aspectos cualitativos que los cuantitativos.

La estabilidad de los agregados al agua tiene relación con la resistencia a la humectación.

Los ángulos de contacto medidos sobre microagregados y precipitaciones de soluciones del suelo, permiten metodológicamente obtener similares conclusiones.

LITERATURA CITADA

- BACHMANN, J. 1988. Auswirkung der organischen Substanz verschiedenen Zersetzungsgrades auf die physikalischen Bodeneigenschaften U. Hannover p. 146.
- BECHER, H.H. 1985. Grenzen der Nachweismöglichkeit einer Gefügebeeinflussung durch organische Düngung oder Verdichtung. VDLUFA-Schriftreihe 16:281-286
- BURGHARDT, G. 1985. Bestimmung der Benetzungseigenschaften von Moorbodenlösungen durch Kontaktwinkelmessungen. Zeitschrift fuer Pflanzenernaehrung und Bodenkde 148:66-72
- ELLIES, A.; HARTGE, K.H. 1990. Erfassung der Gefügeveränderung infolge von Inkulturnahme von Böden des Sekundärwaldes in Südchile durch Multivarianzanalyse Z. fuer Kulturtechnik und Landentwicklung 31:380-388.
- ELLIES, A.; RAMÍREZ, C.; MAC DONALD, R. 1993. Cambios en la porosidad de un suelo por efecto de su uso Turrialba 43(1):72-76.
- ELLIES, A.; RAMÍREZ, C.; FIGUEROA, H. 1994. Cambios morfológicos del espacio poroso de un Hapludand sometido a distintos usos agropecuarios. Agro Sur (Chile) 22(1):23-32

- FORTUN, C.; FORTUN, A. 1989. Diversos aspectos sobre el papel de la materia orgánica humificada en la formación y estabilización de los agregados del suelo. *Anales de Edafología y Agrobiología* 48:185-204.
- FORSTER, S.M. 1979. Microbial aggregation of sand in an embryo dune system. *Soil Biology and Biochemistry* 11:537-543.
- GIOVANNI, J.; LUCCHESI, S.; CERVELLI, S. 1983. Water-repellent substances and aggregate stability in hydrophobic soil. *Soil Science* 135:110-113.
- HAMBLIN, A.P.; GREENLAND, D.J. 1977. Effect of organic constituents and complex metal ions on aggregate stability of some East Anglian soils. *Journal of Soil Science* 28:410-416.
- HARTGE, K.H. 1959. Ursachen der Verbesserung der Strukturstabilität durch Kalkung. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 85(130):214-217.
- HARTGE, K.H.; HORN, R. 1992. Die physikalischen Untersuchungen von Böden. *Enke 3rd Stuttgart* p. 177.
- HOFMAN, G.; DE LEENHEER, L.; APPELAMANS, F. 1974. Medelingen van de Riksfaculteit Landbouwetenschappen. *Gent* 39:1622-1634.
- JAMISON, V.C. 1942. The slow reversible drying of sandy soil beneath citrus trees in central Florida. *Soil Science Society of America. Proceedings* 7:36-41.
- LETEY, J.; MARTIN, J.P.; SAVAGE, S.M. 1969. Contribution of some soil fungi to natural and heat induced water repellency in sand. *Soil Science Society of America. Proceedings* 33:405-409.
- LETEY, J. 1972. Substances contributing to fire-induced water repellency in soils. *Soil Science Society of America. Proceedings* 36:374-378.
- MONTALDO, P. 1973. Determinación de zonas agroclimáticas entre la Cuesta de Lastarria y el Seno de Reloncaví, Chile. *Agro Sur* 3(2):117-130.
- RAMÍREZ, C.; FIGUEROA, H.; CARRILO, R.; CONTRERAS, D. 1984. Estudio fitosociológico de los estratos inferiores en un bosque de pino (Valdivia, Chile). *Bosque* 5(2):65-81.
- RAMÍREZ, C.; SAN MARTÍN, C.; ELLIES, A.; MAC DONALD, R.; FIGUEROA, H. 1993. Cambios florísticos y radicales en un suelo forestal sometido a diferentes manejos. *Boletín Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo* 10:11-31.
- SAN MARTÍN, C.; RAMÍREZ, C.; FIGUEROA, H. OJEDA, N. 1991. Estudio sinecológico del bosque de Roble-Laurel-Lingue del centro-sur de Chile. *Bosque* 12(2):11-27.
- WEINBERGER, P. 1973. Beziehungen zwischen mikroklimatischen Faktoren und natürlicher Verjüngung araukano-patagonischer *Nothofagus*-Arten. *Flora* 162:157-179.
- WOLF, K.L. 1957. *Physik und Chemie der Grenzflächen*. Berlin, Springer Verlag p. 230.

Backcross populations for genetic analysis of *Theobroma cacao*. Catongo X Tree 33 (Catongo X Pound 12)

Paul J. Fritz*, Joseph Osei**, Jorge Morera***,
Helga Rodríguez***, David R. Walker***,
Jorge Láinez***, Ramón Lastra***

RESUMEN

Se estudió una población retrocruzada de 165 árboles de cacao (*Theobroma cacao*), originada del cruce intecional entre Catongo y Pound 12, en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Después de 27 meses de plantación en el campo (33 meses después de la germinación), se hicieron las siguientes observaciones: a) 116 árboles (70.3%) florecieron y 34 (20.6%) árboles tuvieron mazorcas; b) el árbol de mayor altura fue de 168 cm y el más corto de 24 cm, con un promedio de 95.6 cm; c) el diámetro más ancho de tallo, a 30 cm encima del suelo, fue de 6.5 cm y el más pequeño a 0.8 cm, con un promedio de 4.0 cm; d) un gen de color se expresó en los brotes de follaje, flores y semillas: 75 árboles mostraron brotes de color rojo y 59 (78.7%) estaban en proceso de florecer (con estambres rojos); 87 árboles tenían brotes de color verde pálido y 57 (65.5%) estaban en proceso de florecer (con estambres blancos). Esta segregación con una relación de 1:1 fue consistente con un gen simple, probablemente por vía de la antocianina biosintética, denotándose como homocigota recesivo en Catongo y homocigota dominante en Pound 12; e) los estudios de autocompatibilidad también indican un condicionamiento debido a un gen simple que se expresa en forma recesiva-dominante; y f) los datos sobre las mazorcas y las semillas correspondieron al primer cuatrimestre del tercer año.

SUMMARY

A backcross population of cacao (*Theobroma cacao*), now totalling 165 trees, originating from an intracross between Catongo and Pound 12, has been established at the Agricultural Research and Training Center (CATIE) in Turrialba, Costa Rica. Twenty-seven months after planting in the field (33 months after germination), the following observations have been made: a) 116 trees (70.3 %) are flowering, and 34 (20.6 %) are bearing pods; b) the tallest tree is 168 cm, the shortest is 24 cm, and the average height is 95.6 cm; c) the largest trunk diameter, 30 cm above the ground, is 6.5 cm, the smallest 0.8 cm and the average is 4.0 cm; d) a gene for color is expressed in flush leaves, flowers, and seeds. Seventy-five trees give red leaf flush and 59 (78.7%) of these trees are flowering (red staminodes). Eighty-seven of the trees give pale green leaf flush, of which 57 (65.5%) are flowering (white staminodes). This 1:1 segregation is consistent with a single gene, probably in the anthocyanin biosynthetic pathway, homozygous recessive in Catongo and homozygous dominant in Pound 12; e) autocompatibility studies also suggest conditioning by a single gene expressed in a dominant-recessive fashion; f) pod and seed data for the first quarter of the third year in the field are reported.

INTRODUCTION

Cacao, the source of chocolate flavor and cocoa butter, is a major cash crop for a large number of than a million people, worldwide. In contrast to many food crops that have benefitted from advances in plant breeding technology over the past 75 years, cacao breeding for the selection of high-yielding, disease- and insect-resistant trees has been slow and uncertain. Because advances in tree quality have lagged, much prime land that could be used for food crops is instead used to grow cacao. In Ghana and Cote d'Ivoire, two of the world's leading cacao-producing nations, over 3 million hectares are devoted to growing cacao. A major reason for slow progress in cacao breeding, as with other tree crops, is long generation times (3-5 years for cacao), but more importantly, lack of a genetic linkage map to aid breeders in the selection process.

¹ Received on October 18, 1995.

This research was supported in part under Grant Number DPE-55542-G-SS-7034, Program in Science and Technology Cooperation, Office of the Science Advisor, U S Agency for International Development. Major funding was from an endowment provided to Penn State University by ACRI-the American Cocoa Research Institute. ACRI also supported this work through an individual grant to P. Fritz.

The authors extend special recognition and appreciation to Antonio Alfaro for his many contributions to the field work required in this research

- American Cocoa Research Institute-Penn State University Cocoa Molecular Biology Laboratory, University Park, Pennsylvania, 16802, USA.

Present address: Agricultural Research and Training Center (CATIE) 7170, Turrialba, Costa Rica.

- American Cocoa Research Institute-Penn State University Cocoa Molecular Biology Laboratory, University Park, Pennsylvania, 16802, USA

Present address: University of Ghana, Agricultural Research Station, Kade, Ghana.

- Agricultural Research and Training Center (CATIE) 7170, Turrialba, Costa Rica.

Now, at CATIE, a genetic linkage map for cacao is being developed, made possible by advances in molecular genetic technology, in particular the polymerase chain reaction (Saiki *et al.* 1988), and the randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) technique (Williams *et al.* 1990; Welsh and McClelland 1990). The initial map will contain only DNA markers of defined nucleotide sequence and by itself will have value primarily as a framework for locating markers related to traits useful to cacao breeders. Thus, an important part of the linkage map studies is to relate phenotypic traits to molecular markers.

The vehicle for map construction is a genetically defined population of cacao trees initiated at CATIE in 1978 by crossing an upper Amazon clone (Pound 12) with a lower Amazon clone (Catongo). From this cross, some 120 hybrid trees were planted under two different types of shade tree and have been the source of extensive agroforestry studies (Alpizar *et al.* 1986; Heuvelodop *et al.* 1988; Fassbender *et al.* 1988; Beer *et al.* 1990; von Platen 1991; Morera *et al.* 1993; Mora *et al.* 1993). In 1990, pollen from one of the hybrid trees was used to pollinate the Catongo parent in a backcross designed to produce a segregating population to be used for linkage map construction. Currently 168 of these backcross progeny are growing in the field at CATIE, and construction of the molecular marker linkage map is well underway. A preliminary, low-density amplification fragment length polymorphism (AFLP) linkage map using the backcross segregating population described in the present report has been described (Osei 1993; Osei *et al.* 1993).

As noted above, the DNA marker map is of value primarily as a framework for selection of traits important to plant breeders. When the map is complete, it should be possible to relate DNA markers, detectable at the seedling stage, to traits such as disease or insect resistance that may require mature plants for evaluation. Thus, as we proceed with construction of the marker map, we are beginning to gather information about phenotypic traits, sometimes called descriptors, in the backcross population. A list of descriptors currently being measured for future mapping includes: 1) flower, seed, and flush leaf color, 2) autocompatibility, 3) growth rates, 4) time of flowering, 5) time of pod bearing, 6) yield, 7) pod index, 8) seed index, 9) number of ovules per flower, and 10) number of

seeds per pod. Most of these so-called quantitative traits are determined by more than one gene, but it may be possible to determine map positions of these several genes using current technology. Future descriptors to be measured and mapped include: 1) amount of cocoa butter per seed, 2) triglyceride composition of seeds, 3) chocolate flavor of seeds, 4) resistance to various fungi, and 5) resistance to various insects.

The present report documents phenotypic data for the backcross population for the period from May 1991, when the trees were put into the field, until the end of August 1993. Four other backcross populations are being developed at CATIE using Catongo X Pound 12 hybrid pollen and future reports will document the characteristics of these segregating populations as they become available.

MATERIALS AND METHODS

Catongo X Pound 12 interclonal cross

Progenies from this cross (over 120 trees) were established in the field at CATIE in 1977 as part of a long-term experiment to test the effect on yield of growing cocoa under two different types of shade trees, the timber tree *Cordia alliodora* (laurel) and the leguminous tree *Erythrina poeppigiana* (mountain inmortelle or poró). Several reports on various aspects of this experiment have been published (Alpizar *et al.* 1986; Heuvelodop *et al.* 1988; Fassbender *et al.* 1988; Beer *et al.* 1990; von Platen 1991; Morera *et al.* 1993; Mora *et al.* 1993).

Catongo is a highly homozygous, autocompatible, white-seeded and white-flowered lower Amazon Forastero type, found near Urucuca, Bahia, Brazil in 1939 (Wood and Lass 1985). Catongo is classified as moderately susceptible to *Phytophthora palmivora* (Phillips and Galindo 1989). Pound 12 is one of the Nanay origin clones collected as budwood near the headwaters of the Amazon by Pound in 1943. Pound 12 is an autoincompatible, purple-seeded, purple-flowered, upper Amazon Forastero and is moderately resistant to *P. palmivora* (Phillips and Galindo 1989).

Catongo X (Catongo X Pound 12) backcross

In June 1990 at CATIE, pollen from one of the hybrid progeny (tree number 33) was used to

pollinate the Catongo parent. In December, 1990, three pods from this backcross were taken to Penn State University, where 132 seeds (62 purple and 70 white) were germinated and planted in a greenhouse. After growing in the greenhouse for some 10 months, the seedlings were devastated by spider mites and none survived. Also in December 1990, 197 seeds (95 purple and 102 white) were planted in a nursery at CATIE, and in May 1991, 191 of these seedlings were established with 3 X 3 m spacing in the field. Currently, 165 of these seedlings have survived and these trees are the subject of this report. The trees are growing in a 0.25 ha field with drainage ditches and mixed shade trees including guava, poró, and banana.

Agronomic management includes chupon control and fertilization according to a yearly schedule as follows: August- 90 g per tree 18-5-15-3.7 N-P-K-Zn; December- 90 g per tree 18-5-15-3.7; April-80 g per tree 10-30-10. On April 27, 1993 the field was sprayed with 100 l of a 1000-fold dilution of Roundup® to control weeds. No insecticides have been applied despite some damage by leaf-cutting ants, aphids, and caterpillars.

RESULTS AND DISCUSSION

Hybrid pollen parent

In general, progeny of the Catongo X Pound 12 cross displayed the hybrid vigor or heterosis which has long been the basis for cocoa breeding programs. Tree 33, the one chosen as pollen parent for the backcross to Catongo, was above average in yield and pod index, as seen in Table 1. The actual yield data collected for the hybrid progeny were kilograms dry seeds/tree/year (Morera *et al.* 1993). Yields per hectare were calculated on the basis of 1111 trees per hectare. R-resistant; MR-moderately resistant; MS-moderately susceptible; S-susceptible; N.D.-not determined; Pod index-number of pods required to produce 1 kg dry seeds; Seed index-average weight of dry seeds; AC-autocompatible; AI-autoincompatible.

Resistance to *P. palmivora* was measured using the method developed at CATIE by Phillips and Galindo (1989), in which resistance is assessed by lesion size six days after pod inoculation with an aqueous suspension of *P. palmivora* spores. However, the resistance data shown in Table 1 are

Table 1. Genetic profile of Catongo and Pound-12 Clones and their hybrid progeny.

Genotype	(kg/ha)	Pod index	Seed index	Compatibility	<i>P. palmivora</i>
Catongo	400	30.8	0.9	AC	MS
Pound 12	400	27.9	0.8	AI	MR
CxP (Ave)	739	23.1	1.3	1:1 AC:AI	21% R 23% MR 19% MS 37% S
CxP tree 33	1000	21.2	1.1	AC	N.D.

based on lesion size 10 days after inoculation, which is now thought to give a more reliable estimate (Phillips, personal communication). Resistant clones show lesions of less than 2 cm diameter, moderately resistant from 2.1 to 4 cm, moderately susceptible from 4.1 to 6 cm, and susceptible above 6.1 centimeters.

The hybrid progeny clearly show evidence of enrichment for *P. palmivora* resistance genes when compared to data from 204 clones in the CATIE germ plasm collection where it was observed, using the six-day criteria, that only 9.3% were resistant, 45.6% were moderately resistant, 30% moderately susceptible, and 15% susceptible. Further evidence of enhanced *Phytophthora* resistance in these hybrids is the fact that CATIE 1000, the most resistant clone in the entire germ plasm collection, is derived from an earlier Catongo by Pound 12 cross (Phillips and Galindo 1989). The backcross population is too young to do a complete *P. palmivora* resistance study, but we can expect to find segregation of disease resistance genes that can be placed on the genetic linkage map once the trees are old enough to do the studies.

Backcross population Quantitative traits

Precocity. Cocoa has a dimorphic growth pattern characterized by a change from orthotropic to plagiotropic growth at the transition from juvenile to adult. This event is marked by division of the single orthotropic meristem into as many as five meristematic plagiotropic shoots that grow more or less parallel to the ground forming the so-called fan branches of a growing cocoa tree.

The event is called jorquette formation and is followed, sometimes quickly, by the appearance of the first flowers. One of the seedlings in the Penn State greenhouse flowered after 9 months, and 3 after 11 months. Some of the trees at CATIE were flowering and beginning to bear pods after 15 months in the field. On the other hand, after 27 months in the field, about a third of the CATIE trees have yet to produce flowers, even though all but six have reached the adult stage as evidenced by jorquette formation. It should be noted that the Penn State greenhouse is at 41°N latitude where day lengths in June and July approach 16 hours of light, in contrast to CATIE at 10°N where approximately 12 hours of dark and light are experienced

Table 2. Precocity of Catongo x (Catongo x Pound 12) backcross population.

Period	Trees flowering	White flowers	Red flowers	Trees with pods
Sep-Nov'92	12	6	6	1
Dec'92-Feb'93	42	21	21	24
Mar-Sep'93	62	30	32	9
Total Sep'93	116	57	59	34

throughout the year. It will be important to learn if early flowering can be induced in tropical cocoa by artificially extending the day length experienced by developing seedlings.

The data in Table 2 summarize information about flower and pod production for the developing backcross population. Several of the trees appear to be exceptionally fertile as seen by multiple pod bearing and the ability to carry fruit to maturity. It should be noted that three trees only set fruit after hand pollination in connection with autocompatibility studies, so it is likely that more than 34 trees are capable of setting fruit. Of the 34 pod-bearing trees, 22 exhibit green leaf flush and white flowers.

Growth rates. Increasing height as well as trunk diameter 30 cm above the ground were measured at intervals after planting in order to assess growth rates. Standard biological growth curves were seen with the developing cocoa seedlings, slow growth or lag phase for about six months, followed by rapid growth or log phase from about 6 to 10 months, then slow growth continuing more or less indefinitely thereafter (Fig 1). Distribution of tree sizes after two years in the field at CATIE is shown in Fig. 2. It was possible to compare growth rates with field-grown saplings at CATIE to greenhouse-grown plants at Penn State.

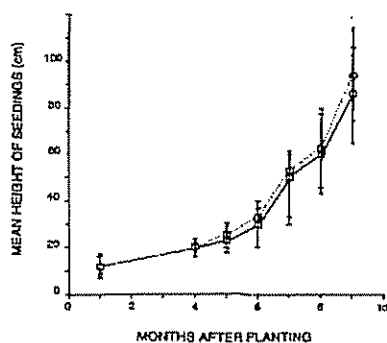


Fig 1. Monthly mean seedling height of progenies of Catongo X (Catongo X Pound 12) backcross population. Values are given as mean plus or minus standard deviation. Circles are seedlings originating from purple seeds, squares are from white seeds.

Although the general shapes of the growth curves were not different, there was much less

variability in the greenhouse-grown trees, alerting us to the fact that much of the extreme variability seen in the field-grown trees may not be genetic in origin but due to environmental conditions such as differences in soil nutrients, shading, different soil chemicals produced by

guava, poro, or banana trees, or other factors. This is an important consideration when attempting to find and map markers related to growth rates.

Pod data. Sixteen trees produced mature fruit in the months of June, July, and August 1993. Of these, six produced only one pod and seven produced as many as four, to a maximum of seven. The data, including tree number, are shown in Table 3.

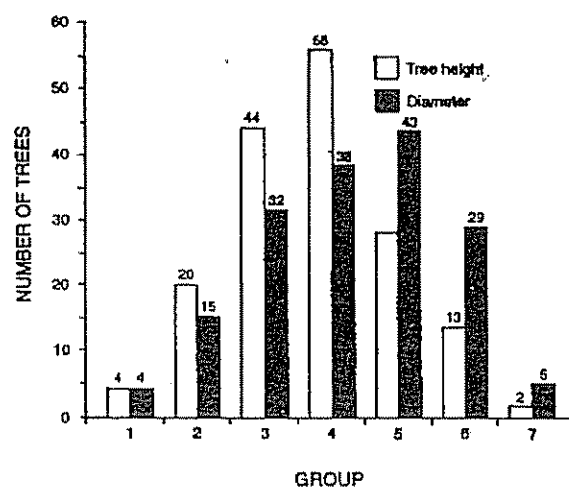


Fig. 2. Variation in jorquette height and trunk diameter 30 cm above the ground in progenies of Catongo X (Catongo X Pound 12) backcross population. Numbers above the bars are the total number of trees in the group. For tree height, group numbers includes trees within the following ranges: Group 1- 20-49 cm, Group 2- 50-69 cm, Group 3- 70-89 cm, Group 4- 90-109 cm, Group 5- 110-129 cm, Group 6- 130-149 cm, Group 7, 150-169 cm. For trunk diameter, group numbers have the following values: Group 1- 0-0.9 cm, Group 2- 1.0-1.9 cm, Group 3- 2.0-2.9 cm, Group 4- 3.0-3.9 cm, Group 5- 4.0-4.9 cm, Group 6- 5.0-5.9 cm, Group 7- 6.0-6.9 cm.

Table 3. Backcross (Catongo x (Catongo x Pound 12) pod data summary June-August 1993.

Tree No.	Flush Color	Quantity	Weight (g)	Length (cm)	Diameter (cm)
1	Red	509 2	509	14.2	8.6
11	Red	6	303 +/- 86.7	12.2 +/- 1.88	7.3 +/- 0.86
14	Green	1	294	10	7.9
18	Red	4	403 +/- 35.9	14.4 +/- 0.8	7.6 +/- 0.49
19	Green	1	517	14.5	8.6
42	Green	5	594 +/- 84.4	15.9 +/- 0.85	8.98 +/- 0.41
84	Green	7	448 +/- 66.0	14.0 +/- 1.44	8.13 +/- 0.35
99	Green	4	386 +/- 83.4	13.6 +/- 0.82	7.82 +/- 0.64
125	Red	1	231	11.5	6.6
126	Green	1	456	15.0	8.4
139	Red	6	419 +/- 109	13.73 +/- 1.60	8.1 +/- 0.76
145	Green	1	520	16.0	8.2
147	Green	1	316	11.0	7.5
148	Green	3	702	16.6	9.2
170	Red	3	413	12.6	8.0
179	Green	3	461	13.1	8.7

Data for trees with more than three pods is expressed as mean, plus or minus standard deviations. For those trees with more than one but less than four pods, the numbers are simple averages.

Table 4. Backcross [Catongo x (Catongo x Pound 12)] Seed Data Summary, June-August 1993

Tree no.	Quantity	Fresh wt (g)	Dry wt (g)	White/Purp	Seed index	Pod index
1	39	74.0	53.4	24/54	1.37	18.8
11	37.5+-8.0	46.5+-8.9	30.2+-8.3	44/181	0.81+- .16	35.3+-10
14	19	30.5	19.9	19/0	1.04	50.2
18	37.8+-3.4	56.6+-9.5	39.9+-5.7	44/107	1.05+- .06	25.4+-4.1
19	37	59.6	43.8	27/10	1.18	22.8
42	43.6+-5.0	76.5+-8.9	53.9+-9.1	218/1	1.24+- .23	18.9+-3.0
84	42.7+-5.7	56.3+-9.1	38.1+-6.9	297/2	0.89+- .06	27.0+-5.1
99	42.2+-11	86.1+-13	45.3+-13	169/0	1.05+- .16	24.4+-10
125	31	28.8	16.1	1/30	0.52	62.1
126	22	39.0	26.6	22/0	1.21	37.6
139	42.2+-11	57.8+-7.1	41.3+-6.4	80/183	0.89+- .16	24.6+-3.8
145	30	50.3	34.1	30/0	1.14	29.3
147	12	18.1	12.3	12/0	1.03	81.3
148	49.3	79.3	55.7	131/17	1.13	18.1
170	25.7	37.5	24.5	5/72	0.89	55.9
179	41.0	75.2	43.4	111/12	1.06	22.9

Seed data. Seeds from the harvested pods (Table 3) we recorded. The wide variability seen in tree size is also seen in the seed data where major differences in number of seeds per pod, weight of seeds, and pod index were noted. It is also interesting to note that in those trees producing green leaf flush and white flowers, virtually all the seeds in these open-pollinated pods were white. White colored seeds can only come from a homozygous recessive condition, suggesting that these trees were likely to be self-pollinated and thus autocompatible.

Other seed data of interest to cocoa breeders and chocolate manufacturers include cocoa butter content and chocolate flavor. The seeds collected in this study will be used to assess these properties in the hope that segregation of these quantitative traits in

the backcross population will allow correlations with molecular markers and ultimately identification of genes responsible for these traits. A study (Lockwood 1992) of the cocoa butter content of 126 cacao clones revealed that Pound 12 at 59.1% dry bean weight had the third highest cocoa butter content, while Catongo at 56.6% was much lower, suggesting that we can expect to see segregation for this trait in the backcross population.

Single gene traits

Color. Lack of color, as seen in pale green flush leaves, flowers and seeds, is the consequence of a homozygous recessive condition. Catongo has all these traits, in contrast to Pound 12, which has a red leaf flush, red flower staminodes, and purple seeds

resulting from a homozygous dominant or heterozygous condition for this trait. The F1 hybrids all have varying shades of red leaf flush and red flower staminode color indicating a heterozygous condition, confirmed by the backcross of a heterozygote (tree 33) to a homozygous recessive (Catongo) to produce a 1:1 segregation of leaf flush and flower color in the backcross population (Table 2). A gene, most likely encoding an enzyme in the anthocyanin biosynthetic pathway, is probably responsible for this situation. The utility of using white seeds to confirm genetic crosses was first noted some 60 years ago (Wellensiek 1932).

Autocompatibility. Catongo is autocompatible and Pound 12 is autoincompatible, as noted in Table 1. Of 86 F1 hybrids tested, 41 were self-compatible and 45 were self-incompatible (Table 1; Morera *et al.* 1993). This 1:1 segregation can be explained by the presence of a single gene, homozygous recessive in one parent and heterozygous in the other. Presently we are not certain which of the parental trees is homozygous or heterozygous, though it seems probable that Catongo is heterozygous because tree 33, the F1 pollen parent for the back-cross, is also autocompatible and therefore must have the same allelic composition as Catongo. Thus it is predicted that the backcross population will segregate in a 3:1 ratio of autocompatible to autoincompatible. Preliminary results show that some of the backcross trees are autocompatible and some are not, but more determinations are needed to establish the ratios with confidence.

LITERATURE CITED

- ALPÍZAR, L.; FASSBENDER, H.W.; HEUVELDOP, J.; FÖLSTER, H.; ENRÍQUEZ, G. 1986. Modelling agroforestry systems of cacao (*Theobroma cacao*) with laurel (*Cordia alliodora*) or poró (*Erythrina poeppigiana*) in Costa Rica. I. Inventory of organic matter and nutrients. *Agroforestry Systems* 4:175-189.
- FASSBENDER, H.W.; ALPÍZAR, L.; HEUVELDOP, J.; FÖLSTER, H.; ENRÍQUEZ, G. 1988. Modelling agroforestry systems of cacao (*Theobroma cacao*) with laurel (*Cordia alliodora*) and poró (*Erythrina poeppigiana*) in Costa Rica. III. Cycles of organic matter and nutrients. *Agroforestry Systems* 6:49-62.
- FASSBENDER, H.W.; BEER, J.; HEUVELDOP, J.; IMBACH, A.; ENRÍQUEZ, G.; BONNEMANN, A. 1991. Ten year balances of organic matter and nutrients in agroforestry systems at CATIE, Costa Rica. *Forest Ecology and Management* 45:173-183.
- HEUVELDOP, J.; FASSBENDER, H.W.; ALPÍZAR, L.; ENRÍQUEZ, G.; FÖLSTER, H. 1988. Modelling agroforestry systems of cacao (*Theobroma cacao*) with laurel (*Cordia alliodora*) and poró (*Erythrina poeppigiana*) in Costa Rica. II. Cacao and wood production, litter production and decomposition. *Agroforestry Systems* 6:37-48.
- LOCKWOOD, R. 1992. International cocoa germplasm data base. Reading, England, School of Plant Sciences, University of Reading. p. 258.
- MORERA, J.A.; MORA, A.; LAÍNEZ, J. 1993. Evaluación del cruce interclonal de cacao "Catongo X Pound 12" en CATIE, Costa Rica. I. Compatibilidad. In International Cocoa Research Conference (11., Yamoussoukro, Cote d'Ivoire). Proceedings.
- MORA, A.; MORERA, J.A.; LAÍNEZ, J. 1993. Evaluación del cruce interclonal de cacao "Catongo X Pound 12" en Catie, Costa Rica. II. Fenología. In International Cocoa Research Conference (11., Yamoussoukro, Cote d'Ivoire) Proceedings.
- MORERA, J.A.; MORA, A. 1993. Evaluación del cruce interclonal de cacao "Catongo X Pound 12" en CATIE Costa Rica. III. Rendimiento. In International Cocoa Research Conference (11., Yamoussoukro, Cote d'Ivoire). Proceedings.
- OSEI, J.K. 1993. A genetic linkage map for *Theobroma cacao*. Ph.D. Thesis, Pennsylvania State University.
- OSEI, J.K.; FURTEK, D.B.; FRITZ, P.J. 1993. Amplification fragment length polymorphic DNA markers for genetic analysis of *Theobroma cacao*. In International Cocoa Research Conference (11., Yamoussoukro, Cote d'Ivoire) Proceedings.
- PHILLIPS, W.; GALINDO, J.J. 1989. Método de inoculación y evaluación de la resistencia a *Phytophthora palmivora* en frutos de cacao (*Theobroma cacao*). Turrialba (C.R.) 39:488-497.
- SAIKI, R.K.; GELFAND, S.; STOFFEL, S.; SCHARF, S.; HIGUCHI, R.H.; HORN, K.B.; MULLIS, K.B.; EHRLICH, H.A. 1988. Primer directed amplification of DNA with thermostable DNA polymerase. *Science* 239:487-491.
- VON PLATEN, H.H. 1991. Economic evaluation of agroforestry systems of cacao (*Theobroma cacao*) with laurel (*Cordia alliodora*) and poró (*Erythrina poeppigiana*) in Costa Rica. In International Workshop on Financial and Economic Analysis of Agroforestry Systems. Honolulu, Hawaii.
- WELLENSIEK, S.J. 1932. The genetics of cotyledon color of cacao as basis for quality selection. *Archief voor de koffiecultuur* 5:217-233.
- WELSH, J.; MCCLELLAND, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* 18:7213-7218.
- WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18:6531-6535.
- WOOD, G.A.R.; LASS, R.A. 1985. Cacao. 4th ed. England, Longman Scientific and Technical Essex. p. 547.

Método Marco CEM. Procedimiento alternativo para determinar el factor de conversión de metro ruma a volumen sólido¹

F. Milla^{*}, J. Cancino^{**}, P. Emanuelli^{***}

RESUMEN

El procedimiento planteado permite determinar el volumen sólido de madera contenido en un metro ruma, mediante la obtención de la superficie ocupada por las secciones de los rollizos, en una unidad muestral cuadrada de un metro de lado. Para calcular la superficie se utilizan cuatro fórmulas distintas, según sea que el rollizo esté completamente incluido en la unidad muestral; se sitúe en el límite o en uno de sus vértices.

Palabras clave: Coeficiente de apilamiento, cubicación, factores de conversión, madera arrumada, metro ruma.

ABSTRACT

The proposed procedure makes it possible to determine the solid volume of wood contained in a cubic meter of stacked timber, by calculating the surface occupied by the sections of the pulplogs in a one-meter square sampling unit. Four different formulas are used to calculate the surface, depending on whether the pulplog is completely within the sampling unit, is on the edge of same, or is located at one of its vertexes.

INTRODUCCIÓN

La principal materia prima empleada para la fabricación de pulpa y pastas es la madera, insumo que, en Chile, es extraído de las plantaciones de *Pinus radiata* en forma de trozos (González y Molina 1989). La unidad volumétrica de comercialización es el metro ruma (mr), que corresponde al volumen estéreo contenido en una pila de rollizos de 1 m de ancho, 1 m de altura y 2.44 m de largo (Novoa 1982). Las características de los rollizos varían en diámetro y por la presencia o la ausencia de corteza, según sean las restricciones impuestas para su utilización como insumo primario. La distribución diamétrica y el espesor de corteza, la forma de cada uno de los trozos y la calidad del apilado afectan directamente la proporción de espacios presentes en cada metro ruma en particular, variando con ello su rendimiento en madera sólida, que es el punto de

mayor importancia para el proceso productivo (Ramírez 1970).

MATERIALES Y MÉTODOS

Para convertir el volumen estéreo (mr) en volumen sólido de madera se utilizan factores de conversión que corresponden a valores medios y que se asumen válidos para la madera proveniente de una región determinada (Novoa 1982). Sin embargo, estos valores en promedio presentan un sesgo alto (Loetsch *et al.* 1963).

Los factores de conversión pueden ser obtenidos mediante diversos métodos, que varían en costo y precisión. Ramírez (1970) y Novoa (1982) mencionan el método de desplazamiento de agua, los métodos analíticos y el método de imágenes, entre los más importantes.

El método por desplazamiento de agua es uno de los más exactos que se han desarrollado para determinar el volumen de cuerpos irregulares, pero su aplicación práctica no es común pues requiere de gran manipulación de la madera, además del equipo adecuado, lo cual implica un costo alto (Ramírez 1970).

¹ Recibido el 2 de setiembre de 1993.

^{*} Ingeniero Forestal (E); Depto. Técnico Univ. Forestal, Universidad de Concepción, Los Angeles, Chile

^{**} Ingeniero Forestal, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Concepción, Chillán, Chile

^{***} Ingeniero Forestal, Unidad de Estudios y Análisis VIII Región, Corporación Nacional Forestal, Concepción, Chile

El método de imágenes consiste en obtener una imagen ortogonal de las caras de la ruma, a una escala apropiada, y en realizar las operaciones necesarias para obtener el volumen sólido de los rollizos contenidos en un volumen estéreo definido. Los procedimientos que tradicionalmente se emplean son dos: medición de diámetros sobre la imagen y sobreposición de plantilla de puntos.

Las experiencias con el primer procedimiento han tenido resultados contradictorios, pues mientras Kallio *et al.* (1973) no encontraron diferencia significativa entre el volumen obtenido por este procedimiento y el determinado mediante desplazamiento de agua, Novoa (1982) detectó diferencia con respecto al volumen obtenido en terreno por medición directa. En cambio, en la utilización del procedimiento de conteo de puntos, tanto Mountain (1949), comparándolo con el procedimiento de inmersión en agua y medición de diámetros en terreno (método analítico), como Novoa (1982), con medición de diámetros en terreno, concuerdan en señalar que no existen diferencias significativas entre este procedimiento y el método patrón utilizado en cada caso, además de destacar su rapidez y facilidad de aplicación.

El método analítico consiste en la representación del cuerpo del rollizo al darle la forma de un cuerpo geométrico conocido. En general, para describir la forma del árbol, el fuste puede dividirse en tres secciones: basal, que se asemeja a un nieloide truncado; media, que se asimila a un tronco de paraboloides, y superior, que puede asemejarse a un cono o paraboloides (Husch *et al.* 1982). Para cubicar los rollizos se utiliza la fórmula más apropiada según la forma que tengan, usándose corrientemente las de Huber, Smalian o Newton. Mientras que las fórmulas de Smalian y Huber son exactas sólo cuando la forma del rollizo corresponde a un tronco de paraboloides, la de Newton es exacta para cualquier cuerpo geométrico (Husch *et al.* 1982).

Si bien Keepers (1945) comprobó que no existe diferencia significativa entre el volumen calculado, utilizando las expresiones analíticas, y el obtenido

por desplazamiento de agua, Husch *et al.* (1982) señalan que para la cubicación de madera apilada resulta apropiada la utilización de la fórmula de Smalian, puesto que las de Newton y Huber utilizan el diámetro central de la troza. Ello obligaría a manipular la madera si se deseara aplicar dichas fórmulas, resultando inconvenientes desde el punto de vista práctico.

En relación a la determinación del volumen sólido por metro ruma, Ramírez (1970), luego de analizar diversas expresiones de estimación, recomienda cubicar las rumas mediante la fórmula:

$$V = (2.44 * \pi * \Sigma di^2) / 40\ 000$$

con:

V: volumen de madera sólida (m³)

di: diámetro sin corteza del rollizo *i* de la ruma, medido en una cara (cm).

Esta expresión resultó con un menor error de estimación, siendo además la más simple para efectos de trabajo de campo y cálculos de oficina. El hecho de medir el diámetro sólo en una cara de la ruma concuerda con lo determinado por Kallio *et al.* (1973) y Novoa (1982), quienes concluyen en sus estudios que si el apilado se realiza correctamente, tanto el promedio de diámetros como la superficie ocupada por las secciones de los trozos en una cara de la ruma no difieren significativamente de los de la otra cara.

El objetivo de este trabajo es presentar un procedimiento alternativo para la obtención del factor de conversión de metro ruma a volumen sólido, junto con el desarrollo de las relaciones matemáticas involucradas.

Fundamento del método

EL procedimiento que se propone para determinar el factor de conversión de metro ruma a metro cúbico sólido sin corteza, denominado método

Marco CEM, se basa en Ramírez (1970), Kallio *et al.* (1973) y Novoa (1982) con respecto al empleo de la fórmula del cilindro en la cubicación de la madera arrumada y a la utilización arbitraria de cualquier cara de la ruma para realizar tal cubicación.

El método consiste en aislar en la ruma de madera un metro ruma, empleando para ello una unidad muestral cuadrada de un metro de lado, dentro de la cual se determina la superficie ocupada por las secciones de los rollizos (Fig. 1).

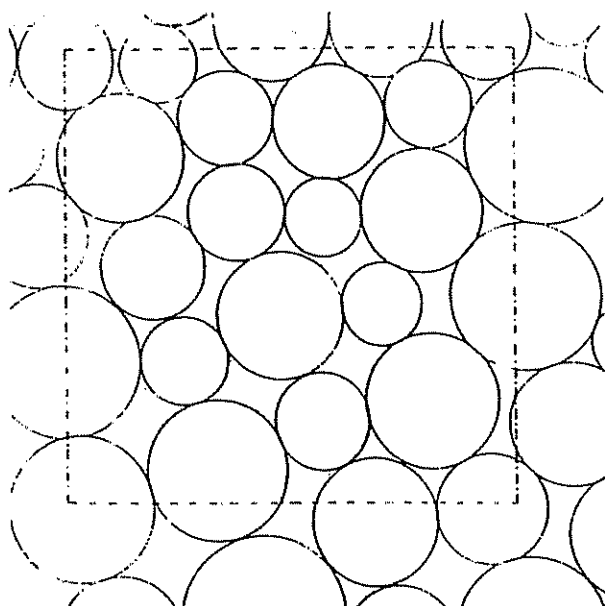


Fig. 1. Disposición de la unidad muestral sobre madera arrumada.

Para ello se asume que la excentricidad de las trozas es igual a la unidad ($e = 1$), utilizándose, en consecuencia, la fórmula del área de una circunferencia para determinar el área de cada sección de los rollizos totalmente incluidos en la unidad muestral, bastando con conocer el diámetro del trozo. La situación es distinta, y más compleja, para el caso de los rollizos que se encuentran parcialmente incluidos en la unidad muestral, los cuales pueden situarse en el contorno de ella o en uno de sus vértices. La compensación del efecto de borde se realiza determinando la fracción de superficie de la sección del rollizo efectivamente contenida en la unidad muestral. Para ello se emplean las expresiones matemáticas que se desarrollan a continuación.

Relaciones matemáticas del método

Rollizo en el contorno de la unidad muestral

Para esta situación se presentan dos casos: A1) cuando el eje longitudinal del trozo se encuentra fuera de la unidad muestral (Fig. 2), y A2) cuando el eje se encuentra incluido en la unidad (Fig. 3).

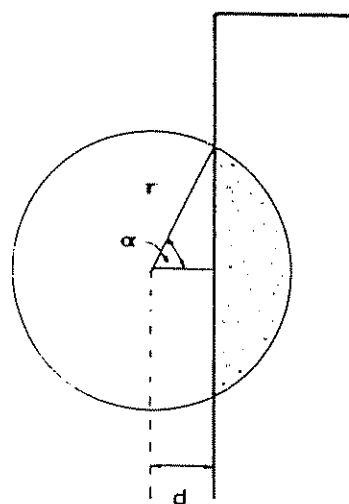


Fig. 2. Área incluida en la unidad muestral para el caso A1.

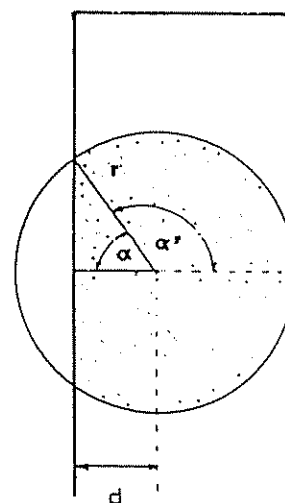


Fig. 3. Área incluida en la unidad muestral para el caso A2.

Caso A1. En este caso, el área incluida (A1) corresponde a la superficie del sector circular (As) menos dos veces el área del triángulo rectángulo formado por el radio "r", la distancia "d" y la distancia "y" (At). Matemáticamente esto es:

$$A_i = A_s - 2 * A_t$$

$$A_1 = \frac{1}{2} r^2 * (2 \alpha) - 2 * \frac{1}{2} (y d)$$

$$A_i = r^2 \alpha - y d \dots \dots \dots (1)$$

donde:

$$y = \sqrt{r^2 - d^2}$$

$$a = \arccos (d/r) \text{ (radianes)}$$

Caso A2. Para este caso, el área incluida (Ai) será igual a la superficie del sector circular (As') más dos veces el área del triángulo rectángulo (At). Algebraicamente se tiene:

$$A_i = A_{s'} + 2 * A_t$$

$$A_i = \frac{1}{2} r^2 * (2 \alpha') - 2 * \frac{1}{2} (y d)$$

$$A_i = r^2 \alpha' + y d$$

donde:

$$\alpha' = \pi - \alpha \text{ (radianes).}$$

Luego:

$$A_i = r^2 (\pi - a) + y d \dots \dots \dots (2)$$

Según lo anterior se tiene que, en el caso en que los rollizos se sitúen en el contorno de la unidad muestral, debe determinarse el diámetro de la troza y la distancia entre el centro de la misma y el borde de la unidad muestral (d).

Nótese, además, que si se considera "d" positivo cuando el eje de la troza esté incluido en la unidad muestral (Caso A2) y "d" negativo, si el eje del trozo se encuentra fuera de ella (Caso A1) y se hace uso de la identidad trigonométrica $\arccos (-x) = \pi - \arccos (x)$, la ecuación 2 es suficiente para determinar el área incluida en ambos casos. Esta expresión resulta también válida en el caso particular

en que el borde de la unidad muestral pase por el centro geométrico de la troza (d = 0).

Rollizo situado en un vértice de la unidad muestral

Para esta situación se presentan distintos casos según sea la posición en que se encuentre el vértice con respecto al centro geométrico o eje de la troza. Para el análisis, se considera, en todos los casos, el vértice superior izquierdo de la unidad muestral.

Caso B1. En este caso (Fig. 4) el área incluida (Ai) será igual a la sumatoria de la superficie del sector circular (As'), más la superficie de los triángulos rectángulos (At1 y At2), y más la superficie del rectángulo (Ar). Matemáticamente se tiene:

$$A_i = A_{s'} + A_{t_1} + A_{t_2} + A_r$$

$$A_i = \frac{1}{2} r^2 \alpha' + \frac{1}{2} y_1 d_2 + \frac{1}{2} y_2 d_1 + d_1 d_2$$

donde:

$$Y = \sqrt{r^2 - d_1^2}$$

$$Y = \sqrt{r^2 - d_2^2}$$

$$\alpha' = \frac{3}{2} \pi - \alpha_1 - \alpha_2 \text{ (radianes)}$$

con:

$$\alpha_1 = \arccos (d_1 / r) \text{ (radianes)}$$

$$\alpha_2 = \arccos (d_2 / r) \text{ (radianes)}$$

Luego se tiene que:

$$A_i = \frac{1}{2} r^2 (\frac{3}{2} \pi - \alpha_1 - \alpha_2) + \frac{1}{2} (y_1 d_1 + y_2 d_2) + d_1 d_2 \dots (4)$$

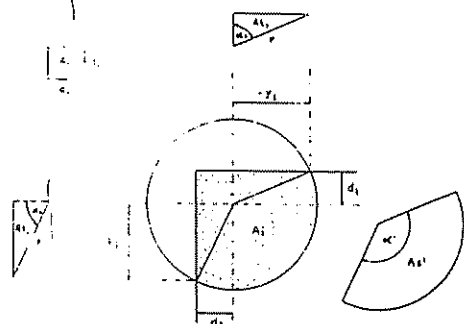


Fig. 4. Área incluida en la unidad muestral para el caso B1.

Caso B2. Para este caso (Fig. 5), el área incluida se obtiene por la diferencia entre la sumatoria con superficies As' , A_1 , A_2 , At_1 , At_2 , y Ar , y el área de la circunferencia de radio "r" (Ac). Esto es:

$$Ai = As' + A_1 + A_2 + At_1 + At_2 + Ar + Ac$$

con:

$$As' = \frac{1}{2} r^2 \alpha \quad Ac = \pi r^2 \quad A_1 = r^2 \alpha_1 - y_1 d_1$$

$$At_1 = \frac{1}{2} y_1 d_1 \quad Ar = d_1 d_2 \quad A_2 = r^2 \alpha_2 - y_2 d_2$$

$$At_2 = \frac{1}{2} y_2 d_2$$

puesto que

$$a' = \frac{3}{2} \pi - \alpha_1 - \alpha_2,$$

se tiene entonces que:

$$Ai = \frac{1}{2} r^2 (\alpha_1 + \alpha_2 - \frac{1}{2} \pi) - \frac{1}{2} (y_1 d_1 + y_2 d_2) + d_1 d_2 \dots \dots (4)$$

donde:

y_1 , Y_2 , a_1 y a_2 se calculan de la misma forma que en el caso B1.

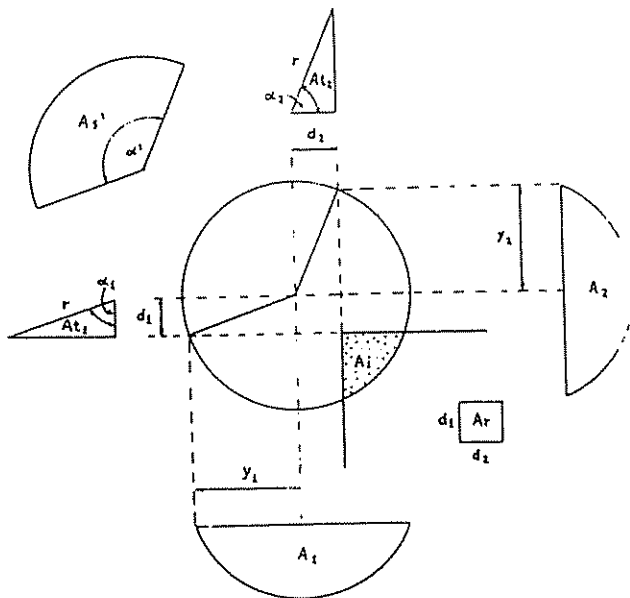


Fig. 5. Area incluida en la unidad muestral para el caso B2.

Caso B3. En este caso (Fig. 6), el área incluida en la unidad muestral (Ai) corresponderá a la diferencia entre el área del arco de circunferencia (A_2) y la superficie de la fracción circular (Ax), donde "Ax" se obtiene en forma análoga a la superficie incluida en el caso B2 (ecuación 4). Luego, matemáticamente se tiene:

$$Ai = A_2 - Ax$$

con:

$$A_2 = r^2 a_2 - Y_2 d_2$$

$$Ax = \frac{1}{2} r^2 (a_1 + a_2 - \frac{1}{2} \pi) - \frac{1}{2} (y_1 d_1 + y_2 d_2) + d_1 d_2$$

entonces, se tiene que:

$$Ai = \frac{1}{2} r^2 (a_2 - a_1 + \frac{1}{2} \pi) + \frac{1}{2} (y_1 d_1 - y_2 d_2) - d_1 d_2 \dots \dots (5)$$

Con a_1 , a_2 , y_1 e y_2 obtenidos de la misma forma que en los casos anteriores .

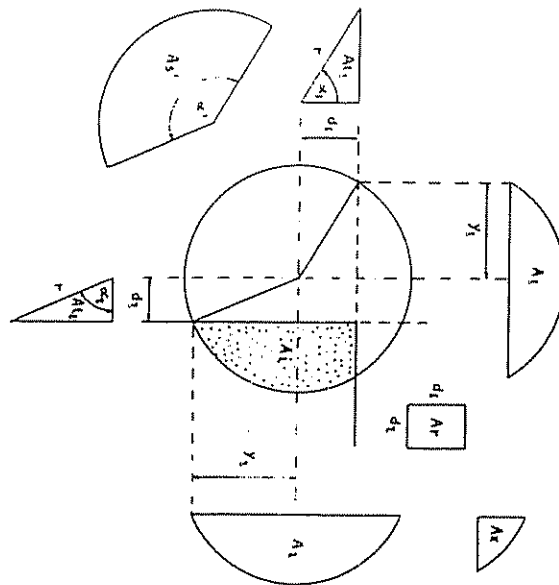


Fig. 6. Area incluida en la unidad muestral para el caso B3.

Caso B4. Para este caso (Fig. 7), se procede en forma similar al caso anterior, teniéndose entonces que el área incluida (A_i) corresponde a la diferencia entre el arco de circunferencia (A_1) y la superficie de la fracción circular (A_x). Algebraicamente esto es:

$$A_i = A_1 - A_x$$

con:

$$A_1 = r^2 a_1 - y_1 d_1$$

$$A_x = \frac{1}{2}r^2 (a_1 + a_2 - \frac{1}{2}\pi) - \frac{1}{2} (y_1 d_1 + y_2 d_2) + d_1 d_2$$

luego:

$$A_i = \frac{1}{2}r^2 (a_1 - a_2 + \frac{1}{2}\pi) - \frac{1}{2} (y_1 d_1 - y_2 d_2) - d_1 d_2 \dots\dots(6)$$

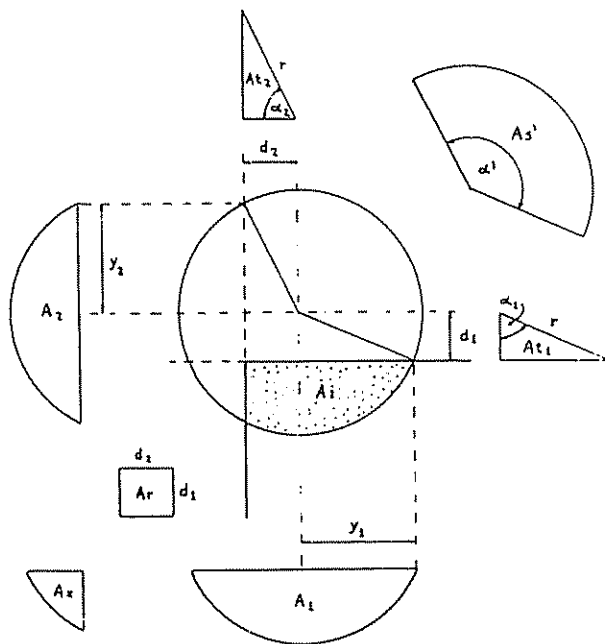


Fig. 7. Area incluida en la unidad muestral para el caso B4.

Caso B5. En este caso (Fig. 8), el área incluida en la unidad muestral (A_i) corresponde a la diferencia entre el área de la circunferencia de radio "r" (A_c) y la sumatoria de las superficies de los arcos de circunferencia (A_1 y A_2). Matemáticamente esto es:

$$A_i = A_c - A_1 - A_2$$

con:

$$A_c = \pi r^2$$

$$A_1 = r^2 \alpha_1 - y_1 d_1$$

$$A_2 = r^2 \alpha_2 - y_2 d_2$$

con lo que se tiene que:

$$A_i = r^2 (\pi - \alpha_1 - \alpha_2) + y_1 d_1 + y_2 d_2 \dots\dots\dots (7)$$

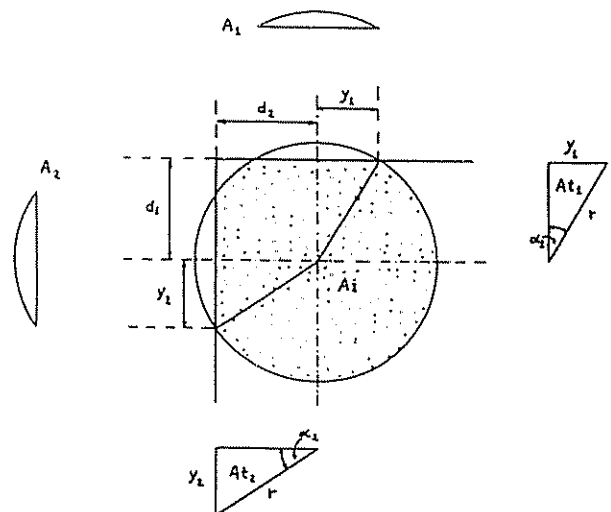


Fig. 8. Area incluida en la unidad muestral para el caso B5.

Luego, para el caso de los rollizos situados en el vértice de la unidad muestral, debe determinarse el diámetro de la troza junto con la distancia vertical y la distancia horizontal desde el centro del rollizo al límite de la unidad muestral (d_1 y d_2 , respectivamente).

Si bien las expresiones anteriores han sido obtenidas considerándose el vértice superior izquierdo de la unidad muestral, son válidas para cualquiera de los vértices de la misma.

Se debería utilizar, entonces, cinco expresiones matemáticas para determinar la superficie incluida en la unidad muestral cuando los rollizos se sitúan en un

vértice de ésta, lo que podría contribuir a que el procesamiento de la información fuese engorroso. Sin embargo, en forma análoga al punto A, si se considera d_1 y d_2 positivos o negativos (Fig. 9), y se aplica la identidad trigonométrica $\arccos(-x) = \pi - \arccos(x)$, puede demostrarse que las expresiones 4, 5 y 6 se reducen a la expresión 3.

De esta forma la totalidad de casos, para la situación B, son descritos utilizando sólo dos expresiones algebraicas (ecuaciones 3 y 7). Nótese, además, que la ecuación 3 resulta también válida para el caso particular en que el vértice de la unidad muestral se sitúe en el borde del rollizo (Fig. 10).

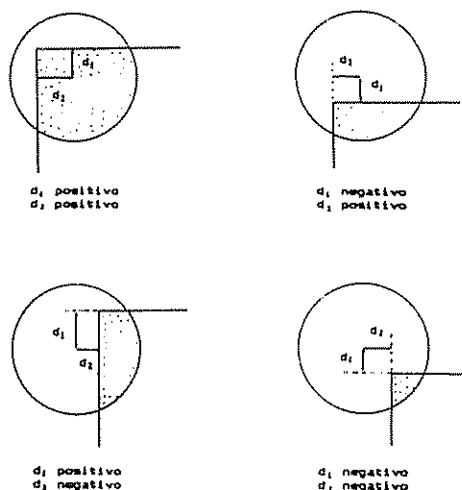


Fig. 9. Signo para d_1 y d_2 según cada caso de la situación B.

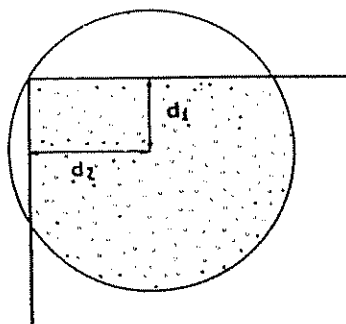


Fig. 10. Vértice de la unidad muestral coincidente con el borde del rollizo.

CONCLUSIONES

En resumen, el método Marco CEM permite obtener el factor de conversión de metro ruma a metro cúbico sólido sin corteza, trabajando con una cara arbitraria de la ruma y sin que sea necesario manipular la madera. Para obtener el volumen sólido de madera contenido en un metro ruma se determina la superficie de la sección de cada rollizo efectivamente incluida en una unidad muestral cuadrada de 1 m de lado. Se utiliza para ello la fórmula del área de una circunferencia cuando los rollizos están completamente incluidos en la unidad muestral; la expresión 2 para los trozos situados en el límite de ésta y las expresiones 3 y 7 cuando los rollizos se sitúan en algún vértice de la unidad. Para obtener el volumen se multiplica la superficie por el largo estándar de los trozos arrumados, que corresponde habitualmente a 2.44 metros.

LITERATURA CITADA

- GONZÁLEZ, J.; J. MOLINA. 1989. Consideraciones sobre los tratamientos silviculturales y los rendimientos cuantitativos y cualitativos en madera pulpable de *Pinus radiata*. Documento Técnico no. 38. Revista Chile Forestal. 8 p.
- HUSCH, B.; MILLER, C.; BEERS, T.W. 1982. Forest mensuration. 3ed. New York, Wiley. 402 p.
- KALLIO, E.; LOTHNER, D.; MARDEN, R.M. 1973. A test of photographic method for determining cubic foot volume of pulpwood. USA For. Service Research. Nota NC-155. 3 p.
- KEEPERQ, C. 1945. A new method of measuring the actual volume of wood in stacks. Journal Forestry 43:16-22.
- LOETSCH, F.; ZOHRER, F.; HALLER, K.E. 1973. Forest inventory. Munchen, Gebr. Parcus K.G. 469 p.
- MOUNTAIN, H.S. 1949. Determining the solid wood volume of four foot pulpwood stacks. Journal Forestry 47:627-631.
- NOVOA, L. P. 1982. Aplicación de métodos fotográficos en la determinación del volumen de madera arrumada de *Pinus radiata* D. Don. Chillán, Chile, Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. 35 p.
- RAMÍREZ, A.M. 1970. El metro ruma: Variables que afectan su rendimiento en madera sólida. Tesis. Santiago, Chile, Universidad de Chile, Escuela de Ingeniería Forestal. 37 p.

Ensayos de endospermo artificial para embriones de mandarina Cleopatra (*Citrus reshni* Hort ex Tan)

N. Nieves*, J.C. Lorenzo*, M. Blanco*, J. González*,
E. Borroto*, O. Concepción*, Z. Fundora*, C.G. Borroto*

RESUMEN

Los experimentos de endospermo artificial realizados con embriones naturales de mandarina Cleopatra (*Citrus reshni* Hort ex Tan) demostraron que la concentración de ácido abscísico (ABA) de 10-6 M provocó retraso en la germinación y conversión de los embriones naturales; los aminoácidos aceleraron el proceso de conversión mientras que el manitol lo inhibió y ninguna de las fuentes de almidón (papa, maíz y arroz) probadas, logró la conversión de los embriones de mandarina Cleopatra.

Palabras clave: Semilla artificial, ácido abscísico, ácido giberélico, carbohidratos, aminoácidos.

ABSTRACT

Artificial endosperm assays in Cleopatra mandarin (*Citrus reshni* Hort ex Tan) showed that abscisic acid (ABA) (10-6 M) delayed germination and conversion of natural embryos; the amino acids accelerated the process of conversion, while the mannitol inhibited this process. None of the starch sources (potato, corn and rice) achieved conversion of encapsulated embryos.

INTRODUCCIÓN

La semilla artificial en patrones de cítricos no tiene importancia económica aparente, ya que produce gran número de semillas con un alto grado de poliembrionía, carácter muy explotado en la propagación de las plantas empleadas como patrones (Campos 1986). Sin embargo, el trabajo para la obtención de la semilla artificial en los cítricos se relaciona con los grupos de mejoramiento genético. La producción de estas semillas artificiales es importante para facilitar el uso de las pocas plantas mejoradas que se obtienen mediante estos programas.

La propagación acelerada de las plantas con germoplasma elite resulta más ventajosa utilizando semilla artificial como método de propagación, por la rapidez de multiplicación y el alto volumen y bajo costo de este método con relación a otros (propagación por estacas, micropropagación) (Castillo 1992).

La semilla artificial es un análogo de la semilla verdadera y está constituida por los siguientes elementos: embrión somático, gel nutriente

específico de los cítricos, (endospermo artificial) y polímero de recubrimiento. El embrión somático es la estructura viva que dará origen a la planta —gel nutriente— que, en el caso desempeña el papel de los cotiledones; y el polímero de recubrimiento es la película que evita la desecación de la semilla, pero que a la vez permite el intercambio gaseoso.

En este trabajo se recogen resultados relacionados con experimentos de endospermos artificiales con embriones naturales de mandarina Cleopatra con el objetivo de conformar el endospermo de la semilla sintética

MATERIALES Y MÉTODOS

En todos los experimentos se emplearon semillas procedentes de frutos maduros, de las que se extrajeron las semillas. Antes de su empleo, en la mesa de flujo laminar, se les eliminó la testa; se sumergieron en una solución de Ca(ClO)₂ 1% durante 10 min y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril.

Los embriones desnudos, despojados de sus cotiledones, se colocaron en medios de cultivo solidificados con agar (0.8%), cuya composición varió según el experimento específico.

¹ Recibido el 17 de agosto de 1994
Centro de Bioplasmas, Instituto Superior Agrícola, Carretera Morón km 9 (CP 69450), Ciego de Avila, Cuba.

Se evaluó el porcentaje de germinación y conversión en cada uno de los experimentos, considerándose un embrión convertido cuando al menos tenía una hoja.

Experimento 1.

Efecto de la sacarosa, el almidón y la relación ácido giberélico (AG3) - ácido abscísico (ABA)

Se sembraron embriones sobre agua con agar (0.3%) y las variantes que aparecen en el Cuadro 1. Dichas variantes tenían como medio basal: sales de Murashige y Skoog (MS) (1962), vitaminas de Murashige y Tucker (MT) (1969) y 100 mg/l inositol.

Cuadro 1. Diseño de los tratamientos para probar el efecto de la fuente de carbono y el balance hormonal.

Fuente de carbono	Balance hormonal
Almidón de maíz (1.5%)	Sin hormonas
	10^{-8} M ABA / 10^{-6} AG ₃
	10^{-6} M ABA / 10^{-6} AG ₃
	10^{-6} M ABA / 10^{-8} AG ₃
Sacarosa (5%)	Sin hormonas
	10^{-8} M ABA / 10^{-6} AG ₃
	10^{-6} M ABA / 10^{-6} AG ₃
	10^{-6} M ABA / 10^{-8} AG ₃

Experimento 2.

Efecto de la sacarosa, el almidón y la relación AG3 - sustitutos del ABA

Como medio basal se utilizaron los mismos componentes del experimento anterior. Manteniendo el AG3 en 10^{-6} M, se hicieron pruebas de sustitutos del ABA (Cuadro 2).

Cuadro 2. Diseño de los tratamientos para probar el efecto de la fuente de carbono y los sustitutos del ABA.

Fuente de carbono	Sustitutos del ABA
Almidón de maíz (1.5%)	prolina (115 mg/l)
	glutámico (8 mg/l) + arginina (6 mg/l)
	manitol (45.5×10^3 mg/l)
	prolina (115 mg/l)
	glutámico (8 mg/l) + arginina (6 mg/l)
	manitol (45.5×10^3 mg/l)

Experimento 3.

Efecto de la fuente de almidón y su concentración

Se utilizó el mismo medio basal que en el experimento 1 y se probaron los tratamientos que aparecen en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Diseño de los tratamientos para probar el efecto de la fuente de almidón y su concentración.

Fuente de carbono	Concentración (%)
Almidón de papa	0.6
	0.8
	1.0
Almidón de maíz	0.6
	0.8
	1.0
Almidón de arroz	0.6
	0.8
	1.0
Sacarosa	5.0
Sin fuente de carbono	0.0

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1. Efecto de la sacarosa, el almidón y la relación ácido giberélico (AG3) - ácido abscísico (ABA)

En la Fig. 1a,b,c,d se muestran los resultados del experimento suplementado con sacarosa al 5%, ya que con el almidón de maíz al 1.5% no se logró la germinación de los embriones, independientemente de los suplementos hormonales. Como se aprecia las combinaciones sin hormonas y $ABA < AG3$ alcanzaron el 100% de germinación a los siete días de iniciado el cultivo, mientras que $ABA = AG3$ y $ABA > AG3$, aunque lograron también que germinara el 100% de los embriones, lo completaron con cierto retraso, o sea, a los 14 días.

En cuanto a la conversión, la combinación de $ABA > AG3$ inició primero el proceso a los 21 días, pero todos los embriones no lograron convertir y hubo un descenso posterior provocado por la muerte de un 5% de los mismos. El tratamiento sin hormonas comenzó a convertir siete días después del

suplemento con mayor contenido de giberelinas y a los 35 días todos convirtieron a plantulitas. En la combinación con los más altos niveles del inhibidor, la conversión se inició también a los 28 días, pero este proceso resultó más lento, puesto que a los 42 días es que se estabiliza la curva y no se logra la conversión del 100% de los embriones. El tratamiento con mayor retraso en el comienzo de la conversión es el de iguales concentraciones de ABA y AG3, que inicia a los 35 días y a los 49 días presenta sólo el 95% de convertidos.

Redembaugh *et al.* (1987), con embriones somáticos de alfalfa, comprobaron que la mayor conversión (hasta 52%) se logró con almidón de papa hidrolizado al 1.5%; seguida por el almidón de papa soluble y el almidón de maíz, ambos al 1.5 por ciento. En el trabajo, cuando se añadió al medio el almidón de maíz a esa concentración, no se logró la germinación de los embriones naturales de cítricos, mientras que la sacarosa al 5% tuvo un efecto favorable para ambos procesos (germinación y conversión). Ello indica que los embriones naturales de cítricos no son capaces de hidrolizar el almidón y de utilizarlo como fuente de reserva energética cuando son cultivados "in vitro". Por otra parte, se ha planteado que la sacarosa desempeña dos papeles fundamentales en condiciones "in vitro": fuente de carbono y agente osmótico (Kitto y Janick 1985b).

El incremento de estrés osmótico se asocia con la plasmólisis celular (Lovey *et al.* 1975), la inhibición del crecimiento celular (Wong y Sussex 1980) y la elevación de los niveles de ABA endógeno (Lovey *et al.* 1975; Wong y Sussex 1980). De este modo, un potencial osmótico alto, impuesto por 12% de sacarosa (0.35 M), pudo incrementar el ABA endógeno así como causar hidratación del embrión asexual de zanahoria (Kitto y Janick 1985b).

Los resultados encontrados en el trabajo en el tratamiento sin hormonas evidencian que la concentración de sacarosa empleada fue incapaz de provocar un estrés que indujera niveles de ABA por encima del óptimo para inhibir la germinación, sino que favoreció los niveles endógenos del mismo y los procesos de crecimiento y desarrollo.

Al presentar igual comportamiento en la dinámica de germinación los embriones con suplemento hormonal exógeno que los tratados con el balance favorable al promotor, se evidencia que

los primeros presentaban niveles endógenos similar a la proporción del tratamiento inducido, aun cuando no se den en iguales concentraciones. En ambos

casos la acción del AG3 fue siempre superior a la del ABA, impidiéndole su efecto inhibitorio sobre la germinación.

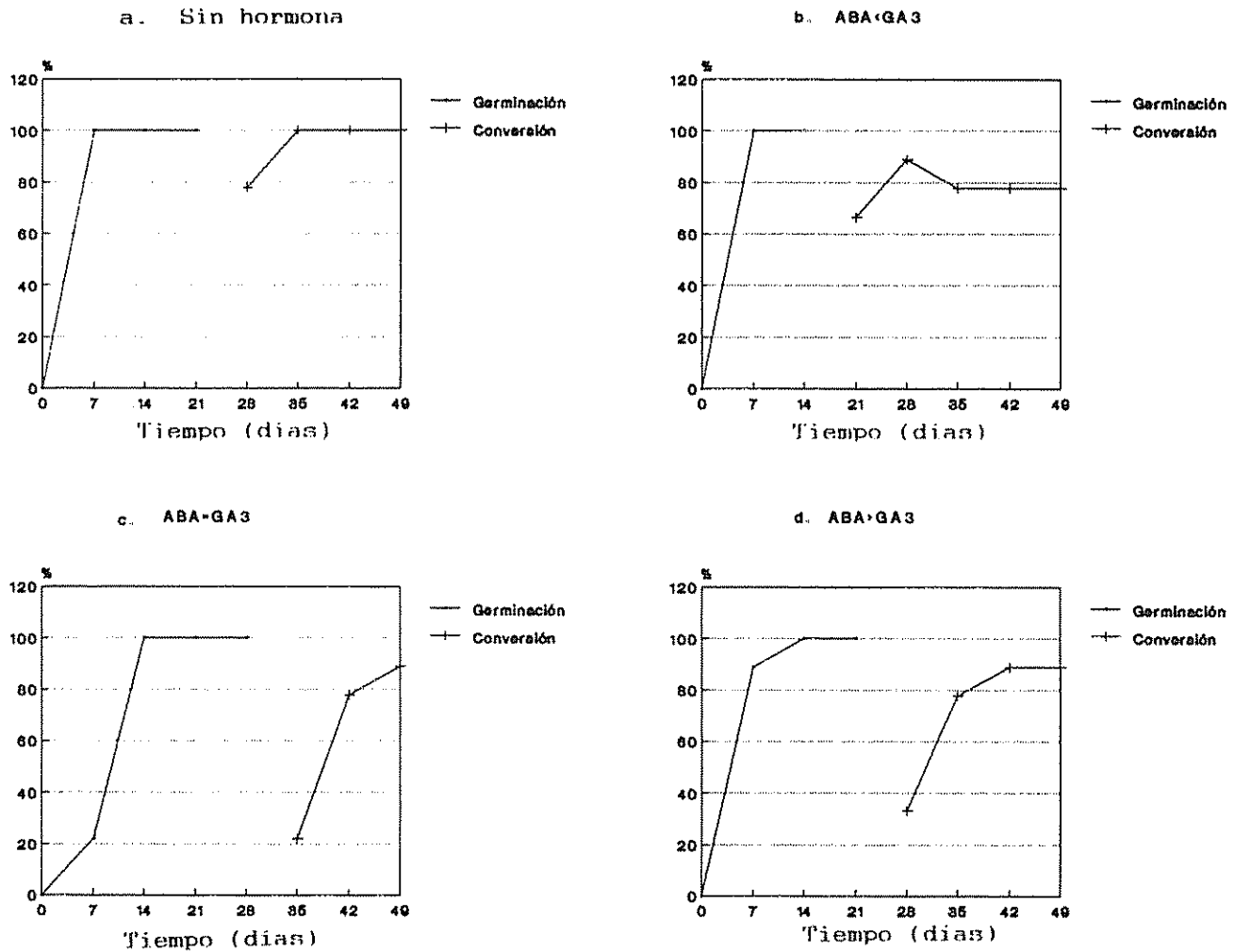


Fig. 1. Efecto de la sacarosa y la relación entre ácido abscísico y ácido giberélico.

En el tercer caso (Fig. 1c) se ratifica esta hipótesis teniendo en cuenta que se incrementaron las concentraciones de ABA en el medio, favoreciendo al ABA, en el balance endógeno, al menos en la acción reguladora, por lo que la germinación en este grupo de embriones no alcanzó el 100% hasta 15 días, lo cual se corrobora con el tratamiento ABA > AG3 que tuvo similar comportamiento en su dinámica de germinación.

Experimento 2.

Efecto de la sacarosa, el almidón y la relación AG3 - sustitutos del ABA

En la Fig. 2 se muestran solamente los resultados de los tratamientos que fueron suplementados con sacarosa 5% como fuente carbonada, puesto que los que contenían almidón de maíz al 1.5% no respondieron en ninguno de los tratamientos.

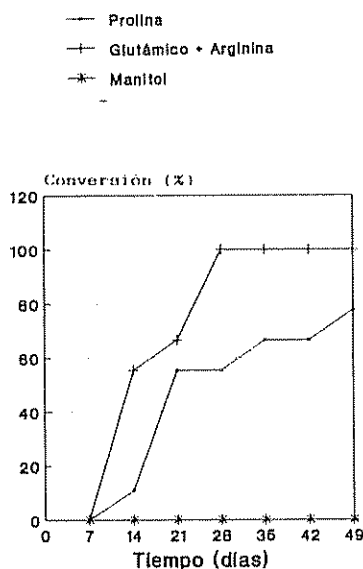


Fig. 2. Efectos de la sacarosa y los sustitutos del ABA.

La conversión se reduce al máximo con la presencia de manitol en el medio, sin embargo es favorecida por los aminoácidos, principalmente la combinación glutámico + arginina. Si se comparan los resultados de la Fig. 2 con los de la Fig. 1, se observa que estos aminoácidos aceleraron el proceso de conversión. Este comenzó a partir de los 14 días, mientras que en el experimento donde estuvo

presente el ABA, el mismo se inició a partir de los 21 días en el tratamiento ABA < AG3.

La arginina y el glutámico son los aminoácidos más abundantes en todas las fracciones proteicas de los cotiledones y están relacionados con los procesos de crecimiento y desarrollo, por sus funciones metabólicas y de reserva (García-Agustín y Primo-Millo 1990). Por otra parte, Kim y Janick (1991) lograron incrementos en la tolerancia de los embriones a la desecación, con aplicaciones adicionales de ABA y prolina en el medio. El reemplazo del ABA por el manitol fue tratado por Fujii *et al.* (1989) que señalan que el ABA sólo alcanza mayores tasas de conversión que al ser sustituido por el manitol o combinado con él.

Experimento 3.

Efecto de la fuente de almidón y su concentración

Los tipos de almidón probados, a concentraciones próximas a rangos determinados en los cotiledones, no constituyeron fuentes adecuadas para lograr los procesos de crecimiento y desarrollo, registrándose valores nulos en los tres casos para todas las concentraciones. Ello evidencia que ninguno de ellos fue capaz de ser movilizado para garantizar el suplemento equivalente a los aportes que alcanza la sacarosa en el medio en que fue empleado. Nuevamente los embriones colocados en el medio con el disacárido lograron los máximos porcentajes de germinación y conversión a plántulas.

Estudios precedentes demuestran que las tasas de germinación y conversión en medios enriquecidos con almidón sólo se aproximan a los de medios suplementados con maltosa, cuando los primeros son hidrolizados (Redenbaugh *et al.* 1987) lo que infiere la conveniencia de evaluar nuevamente almidón con estas características y continuar precisando los monosacáridos constituyentes del medio y los rangos de concentración óptimos para alcanzar la germinación y conversión de los embriones.

LITERATURA CITADA

- CAMPOS, A. 1986. Contribución al estudio de la poliembriónia de algunos géneros de Rutaceae. In Simposio Internacional sobre Citricultura. Memorias. v. 1, p. 57-59.

- CASTILLO, R. 1992. Semilla artificial presente y futuro. Cuba, ISACA
- FUJII, J. A.; SLADE, D.; REDENBAUGH, K. 1989. Maturation and greenhouse planting of alfalfa artificial seeds. *Vitro Cell Development Biology* 25:1179-1182
- GARCÍA-AGUSTÍN, P.; PRIMO-MILLO, E. 1990. Changes in some nitrogenous components during the germination of citrus seeds. *Scientia Horticulturae* 43:69-817
- KIM, R.H.; JANICK, J. 1991. Abscisic acid and proline improve desiccation tolerance and increase fatty acid content of celery somatic embryos. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 24:83-897
- KITTO, S. L.; JANICK, J. 1985b. Hardening increase survival of synthetically-coated asexual embryos of carrot. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 110(2):283-286.
- LOVEY, B.R.; BRIEN, C.J.; KRIEDEMANN, P.E. 1975. Biosynthesis of abscisic acid under osmotic stress: Studies based on a dual labeling technique. *Physiologia Plantarum* 33:166-170.
- MURASHIGE, T.; TUCKER, D. 1969. Growth factors requirement of *Citrus* tissue cultures. In *International Citrus Symposium (1)*. Proceedings v. 3, p. 1155-1161
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-4977.
- REDENBAUGH, K.; SLADE, D.; VISS, P.; FUJII, J.A. 1987. Encapsulation of somatic embryos in synthetic seed coats. *HortScience* 22(5):803-809
- WONG, J.R.; SUSSEX, I.M. 1980. Isolation of abscisic acid resistant variants from tobacco cell cultures. I. Physiological bases for selection. *Planta* 148:97-102.

Fecundidad y fertilidad del predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteróptera: Pentatomidae) en cuatro dietas artificiales¹

J.L.D. Saavedra[~], J.C. Zanuncio[~]
C.S. Sedyama[~], T.V. Zanuncio[~]

ABSTRACT

The fecundity and fertility of the predatory bug *Podisus nigrispinus* (Dallas 1851) (Heteroptera: Pentatomidae) reared in four artificial diets based on cow meat, cow liver, beer yeast, egg yolk, Wesson salt, sucrose and honey were evaluated and compared with this bug reared with *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) larva. Females fed with the best diets were lighter than those fed with *M. domestica*, but they laid 174.6 ± 4.0 eggs, similar to 185.6 eggs laid by females reared with *M. domestica*. Even though some egg cannibalism was recorded, the average number of nymphs produced by each female was 100.5 ± 12.2 statistically similar to the 155.4 nymphs produced by each female reared with *M. domestica*. Females produced with artificial diets showed longer periods between egg postures, lower number of eggs by egg mass and higher longevity.

COMPENDIO

Se estudiaron la fecundidad y la fertilidad del predador *Podisus nigrispinus* (Dallas 1851) (Heteróptera: Pentatomidae) en dietas artificiales con base en carne e hígado de res, levadura de cerveza, yema de huevo, sales de Wesson, sacarosa y miel, a temperatura de $25 \pm 2^\circ \text{C}$, $60 \pm 10\%$ de humedad relativa y 12 h de fotoperíodo. Los adultos, en la fase ninfal, se criaron con una dieta semejante. La alimentación con larvas de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) sirvió como testigo. Hembras de las mejores dietas artificiales presentaron menor peso que las del testigo; el promedio total de huevos fue 174.6 ± 4 en las mejores dietas artificiales, en comparación a 185.6 del testigo. A pesar del canibalismo de huevos, observado en los tratamientos con dietas artificiales, el promedio de ninfas que emergieron fue semejante, con 100.05 ± 12.2 ninfas/hembra en dietas artificiales contra 155.4 ninfas/hembra en el testigo. Las hembras provenientes de ninfas criadas con dietas artificiales ovipositaron a intervalos mayores, con menor número de huevos por postura y mayor longevidad.

INTRODUCCIÓN

P. nigrispinus (Dallas 1851) (Heteróptera: Pentatomidae) es una chinche predatora encontrada en ecosistemas forestales y agrícolas en Brasil. En los últimos años, ella y otros predadores han sido criados en laboratorio para ser liberados en plantaciones de eucalipto (Zanuncio *et al.* 1994). Este predador es criado en presas alternativas, utilizándose: *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) y *Tenebrio molitor* (Coleóptera: Tenebrionidae) (Zanuncio *et al.* 1990, 1992a, 1992b, 1992d).

Se realizan estudios para la obtención de dietas artificiales para chinches predatoras con el propósito de substituir la presa alternativa y reducir los costos de producción. Saavedra *et al.* (1992a, 1992b) tuvieron éxito en la cría de *P. connexivus* (especie revisada para *P. nigrispinus* (Dallas 1851) por Thomas (1992) en una dieta con 20% de larvas de *Bombyx mori* (Lepidóptera: Bombycidae), entre otros ingredientes, con mejores resultados que la dieta artificial de Adidharma (1986) para *P. sagitta*.

De Clercq y Degheele (1992) consiguieron criar y reproducir *P. maculiventris* y *P. sagitta* en una dieta basada en hígado y carne de res, formulada a partir de la dieta desarrollada para el predador *Geocoris punctipes* (Heteróptera: Lygaeidae) (Cohen 1985). Basado en estos trabajos, Saavedra *et al.* (datos aún no publicados) obtuvieron dietas que permitieron el desarrollo ninfal de *P. nigrispinus*, con adultos viables y de peso satisfactorio. Los resultados de fecundidad y fertilidad de *P. nigrispinus*, provenientes de estas dietas, se indican en el presente trabajo.

¹ Recibido el 13 de enero de 1995

Parte de la Tesis de Doctorado, presentada por el primer autor a la Universidade Federal de Viçosa (UFV), 36571-000 Viçosa, Minas Gerais, Bra

Los autores desean manifestar su agradecimiento a BIOAGRO-UFV, CAPES, CNPq, FAPEMIG y al Programa Cooperativo para el Manejo Integrado de Plagas Forestales de la SIF, por la ayuda para la ejecución de este trabajo.

~ Estudiante de doctorado en Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa; becario de la CAPES, 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Bra

~ Departamento de Biología Animal, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Bra

~ Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Bra

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de BIOAGRO de la Universidad Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, a temperatura de 25 ± 2° C, 60 ± 10% de humedad relativa y 12 h de fotofase, desde abril hasta julio de 1994.

La cría de *P. nigrispinus* fue mantenida con larvas de *M. domestica* y renovada, frecuentemente, con individuos recolectados en plantaciones de *Eucalyptus* spp. a fin de aumentar la diversidad y disminuir la consanguinidad. Para la preparación de la dieta artificial, los ingredientes básicos, hígado y carne de res, fueron licuados por cuatro a cinco minutos junto con otros productos, los cuales fueron seleccionados en un experimento anterior (Cuadro 1),

hasta la formación de una pasta homogénea. La dieta así preparada fue identificada, envuelta en papel aluminio y guardada en congelador por un período máximo de una semana; después de ese tiempo se preparó una nueva dieta (Cohen 1985; De Clercq y Degheele 1992).

La dieta fresca o descongelada fue introducida en una jeringa sin aguja y colocada sobre un pedazo de membrana de Parafilm[®] de 3 cm X 2 cm, la cual fue previamente estirada tres a cuatro veces su ancho normal. Seguidamente, la dieta fue sellada al presionar los lados del Parafilm, formándose así las larvas artificiales de 2.5 cm a 3 cm de largo por 3 mm a 4 mm de ancho. Estas larvas artificiales se ofrecieron a las chinches o guardadas, por un período máximo de una semana, envueltos en papel aluminio, en congelador, hasta ser usadas.

Cuadro 1. Ingredientes y cantidades de los componentes estudiados en dietas artificiales para el desarrollo ninfal de *P. nigrispinus* (Viçosa, MG, Bra.).

Ingrediente	Cantidad*			
	Dieta A	Dieta B	Dieta C	Dieta D
Hígado de res (g)	60.0	60.0	60.0	60.0
Carne gorda de res** (g)	60.0	60.0	60.0	60.0
Solución al 5% de sacarosa (ml)	14.4	7.2	-	14.4
Agua destilada (ml)	-	-	4.4	-
Sacarosa (g)	-	-	12.0	-
Sales de Wesson (g)	0.6	0.6	-	0.6
Levadura de cerveza (g)	3.0	-	6.0	3.0
Yema de huevo (g)	12.0	6.0	-	12.0
Miel (g)	7.2	-	-	7.2
Ácido ascórbico (g)	0.3	0.3	0.12	0.3
Nipagin (g)	0.3	-	0.3	0.3
Tetraciclina (mg)	30.0	-	30.0	30.0

Notas:

- (*): Dietas A y D obtenidas por selección en bioensayos anteriores. Dieta B es semejante a la de De Clercq y Degheele (1992) para *P. maculiventris* y *P. sagitta*. Dieta C fue recomendada a los autores por un especialista.
- (**): Carne con 15% de gordura aproximadamente en las dietas A, B y C, y hasta 30% de gordura en la dieta D. No se adicionó ingrediente a la dieta.

Durante los experimentos, las larvas artificiales fueron cambiadas diariamente. Las hembras obtenidas de las dietas artificiales y en el testigo, fueron aisladas por cuatro días en placas Petri de polietileno de 9 cm de diámetro, antes de ser colocadas con machos provenientes del mismo tratamiento y edad semejante. Este aislamiento fue necesario para evitar el canibalismo entre parejas (Saavedra *et al.* 1992a; Zanicco *et al.* 1992c).

Diez hembras por tratamiento fueron colocadas con sus respectivos machos en delineamiento completamente al azar, donde cada pareja representó una unidad experimental. En el caso de muerte precoz del macho, la respectiva hembra recibía otro macho del mismo tratamiento, mantenidos como reserva en grupos de cinco por vaso.

Las parejas fueron acondicionadas en vasos de polietileno de 500 ml con tapa y se les proporcionó agua en tubos del tipo de anestesia, encajados en uno de los lados de la tapa. La dieta artificial fue colocada en el fondo del vaso y cambiada diariamente. En el testigo, las larvas de *M. domestica* fueron colocadas en un vaso de polietileno de 40 ml, cuyo fondo fue cambiado por una malla del mismo material, colocado en un orificio hecho en medio de la tapa del vaso.

Se realizaron observaciones diarias con el fin de estudiar las posturas, las cuales fueron recolectadas con un pedazo de algodón y acondicionadas en placas de Petri con algodón húmedo colocado en el centro. En cada postura se contaron el número total de huevos y, eventualmente, el de huevos succionados, caracterizados por el aspecto arrugado del *corium*. Se observaron las posturas diariamente para anotar la emergencia de las ninfas, lo que permitió identificar las siguientes características: período de pre-oviposición (días desde la emergencia de la hembra hasta la primera postura); período de oviposición (días desde la primera hasta la última postura); período de posoviposición (días desde la última postura hasta la muerte de la hembra); longevidad de la hembra (días desde la emergencia hasta su muerte); número de posturas; intervalo entre posturas (número de posturas/período de oviposición); número de huevos por postura (total de huevos/número de posturas); porcentaje de ninfas emergidas; porcentaje

de huevos y posturas predadas, y ninfas producidas por hembra. Para el análisis sólo se consideraron las hembras que colocaban más de una postura.

Para cada característica anotada se realizó un análisis de variancia, con los datos originales o transformados después de la prueba de homogeneidad de variancias de Bartlett. En caso de significación, la prueba de Tukey, al 5% de probabilidad, sirvió para comparar entre dietas artificiales. Luego se realizó la prueba de Dunnett, al 5% de probabilidad, para comparar el testigo con cada una de las dietas artificiales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Peso y longevidad de las hembras

Hembras de *P. nigrispinus*, alimentadas con larvas de *M. domestica* (testigo), tenían significativamente más peso (57.81 mg) que las obtenidas en dietas artificiales, cuyos pesos oscilaban de 55% (dieta C) a 77% (dieta D) del peso de las hembras del testigo (Cuadro 2). De Clercq y Degheele (1992) encontraron con una dieta parecida en hembras de *P. maculiventris* y *P. sagitta* un 72% a un 73% del peso de aquellas alimentadas con *Galleria mellonella* (Lepidóptera: Noctuidae). Las hembras de la dieta D (44.78 mg) tuvieron significativamente más peso que aquellas con la dieta C (31.67 mg), quedando las dietas A y B con pesos intermedios.

Con excepción de la dieta B (29.6 días), las hembras criadas con otras dietas tuvieron una longevidad significativamente mayor (55.9 a 79.8 días) que las del testigo (23.6 días).

Las hembras con la dieta A (79.8 días) y C (62.4 días) tuvieron una longevidad significativamente mayor que aquellas con la dieta B, quedando la dieta D (55.9 días) con un nivel intermedio. Es interesante observar que la dieta B fue la misma que utilizó De Clercq y Degheele (1992), la cual indujo una longevidad de hembras de *P. maculiventris* y *P. sagitta* similar a aquellas que consumieron presas vivas.

Cuadro 2. Peso, períodos de pre-oviposición, oviposición, posoviposición y longevidad de hembras de *P. nigrispinus* en cuatro dietas artificiales (Viçosa, MG, Bra.).

Tratamiento (1)	Peso hembra (mg)	Períodos (días)			Longevidad
		Preoviposición ²	Oviposición ³	Posoviposición ⁴	
Dieta A	40.14 AB*	17.1 A*	57.1 A*	5.5 A	79.8 A*
Dieta B	36.89 AB*	18.9 A*	7.9 B	2.9 A	29.6 B
Dieta C	31.67 B*	20.1 A*	28.4 A	13.9 A*	62.4 A*
Dieta D	44.78 A*	13.6 A*	37.1 A	5.1 A	55.9 AB*
Testigo	57.81	8.1	14.6	0.9	23.6

Notas:

- (1): Dietas seguidas por la misma letra no presentan diferencia significativa. al 5% de probabilidad, por la prueba de Tukey; dietas seguidas de asterisco, no presentan diferencia significativa con el testigo. al 5% de probabilidad. por la prueba de Dunnet.
- (2): Datos originales transformados a $\text{Log}_{10}(10X)$ antes de ser analizados
- (3): Datos originales transformados a $\text{Raíz}(X + 0.5)$ antes de ser analizados.
- (4): Datos originales transformados a $\text{Raíz}(X)$ antes de ser analizados

Períodos de preoviposición, oviposición y posoviposición

Hembras del testigo iniciaron la oviposición después de un período significativamente menor (8.1 días) que aquellas con dietas artificiales. El período de preoviposición (13.6 días para la dieta D y 20.1 días para la dieta C) no presentó diferencia significativa entre dietas (Cuadro 2).

El período de oviposición en el testigo fue de 14.6 días, superado significativamente por la dieta A (57.1 días). Los períodos de oviposición en las dietas A (57.1 días), D (37.1 días) y C (28.4 días) no fueron significativamente diferentes. Sin embargo fueron superiores a la dieta B (7.9 días) (Cuadro 2). Tales diferencias pueden estar relacionadas directamente con la calidad nutricional y/o asimilatoria de

la dieta, reflejada en la capacidad de oviposición, como se observará posteriormente.

La fase de posoviposición, exceptuando la dieta C, fue menor que 5.5 días en las dietas artificiales, sin diferencia significativa con el testigo (0.9 días). El período de posoviposición entre dietas artificiales varió de 2.9 días (dieta C) a 13.9 días (dieta C) (Cuadro 2), aunque sin diferencia significativa.

Número de huevos y posturas

El total de huevos colocados por hembra, provenientes de las dietas A (170.6 huevos) y D (178.6 huevos), fue estadísticamente similar al del testigo (185.6 huevos). Sin embargo, hembras de las dietas B (24.3 huevos) y C (46.7 huevos) colocaron un número de huevos significativamente inferior al del testigo y a las dietas A y D (Cuadro 3).

Cuadro 3. Números de huevos, posturas, huevos por postura y huevos por día de *P. nigrispinus* en cuatro dietas artificiales (Viçosa, MG, Bra.).

Tratamiento (1)	Huevos ²	Total Posturas ³	Post ⁴	Intervalo (días)	
				Huevos/Post ³	Huevos/Día ³
Dieta A	170.6 A	18.9 A	3.04 A*	8.6 A*	3.2 A*
Dieta B	24.3 B*	3.4 C	1.89 B	8.9 A*	6.5 A*
Dieta C	46.7 B*	8.6 BC	3.31 AB*	6.1 A*	2.5 A*
Dieta D	178.6 A	18.0 AB	1.97 AB	10.9 A*	5.9 A*
Testigo	185.6	9.1	1.61	22.2	15.0

Notas:

- (1): Dietas seguidas por la misma letra no presentan diferencia significativa, al 5% de probabilidad, por la prueba de Tukey; dietas seguidas de asterisco no presentan diferencia significativa con el testigo al 5% de probabilidad, por la prueba de Dunnet.
- (2): Datos originales transformados a $\text{Log}_{10}(X)$ antes de ser analizados
- (3): Datos originales transformados a $\text{Raíz}(X + 0.5)$ antes de ser analizados.
- (4): Datos originales transformados a $\text{Log}_{10}(10X)$ antes de ser analizados.

Por otro lado, a pesar de tener fecundidad semejante, las hembras de las dietas A y D colocaron mayor número de posturas que las del testigo, siendo la dieta A (18.9 posturas) significativamente mayor que en el testigo (9.1 posturas). Esto se explicaría por el número, significativamente menor de huevos por postura en las dietas artificiales (6.1 a 10.9 huevos por postura) en relación al testigo (22.2 huevos por postura). Debido al mayor período de oviposición y fecundidad semejante, el promedio de huevos por día en las dietas A y D (3.2 y 5.9 huevos por día) fue significativamente menor que en el testigo (15.0 huevos por día) (Cuadro 3).

Viabilidad de huevos y ninfas emergidas

En las dietas A y D, se comprobó el canibalismo de huevos por las mismas hembras del 14.4% y 34.7%, respectivamente. Por esta razón, la viabilidad del total de huevos en las dietas A (67.8%) y D (50.7%) fue menor que la del testigo (78.9%). Cuando se descartaron los huevos succionados del análisis, la viabilidad en todos los tratamientos se mostró muy

próxima (Cuadro 4) y sin diferencia significativa. En cuanto al número de ninfas producidas por hembra, sobresale numéricamente el testigo (155.4 ninfas por hembra), aunque no fue significativamente diferente de las dietas A (112.3 ninfas por hembra) y D (87.8 ninfas por hembra). Las dietas B y C, con 19.6 y 30.3 ninfas por hembra, respectivamente, presentaron los menores resultados. Las dietas basadas en carne e hígado de res, obtenidas a partir de las dietas de Cohen (1985) y De Clercq y Degheele (1992), fueron adecuadas para la fase reproductiva de *P. nigrispinus*.

Las dietas desarrolladas no llevaron partes de insectos como constituyentes ni como atrayentes y/o estimulantes de la alimentación. Saavedra *et al.* (1992a, 1992b) lograron el desarrollo y reproducción de *P. connexivus* con una dieta que contenía larvas de *B. mori*. Lyashova *et al.* (1985) y Ovasynko *et al.* (1987) suministraron dietas para *P. maculiventris* y *Cycloneda limbifer* utilizando larvas liofilizadas de *M. domestica* como uno de los ingredientes. Sumenkova y Yazlovetsky (1992) criaron *P. maculiventris* con una dieta artificial que contenía 15% de pupas de *Barathra brassicae*.

Cuadro 4. Porcentaje de eclosión y número de huevos y de ninfas producidas por hembras de *P. nigrispinus* en cuatro dietas artificiales (Viçosa, MG, Bra.).

Tratamiento (1)	Porcentaje de eclosión			
	Total de huevos	Huevos enteros	Ninfas/Hembra ²	Ninfas/Día ²
Dieta A	67.8 A	78.3 A	112.3 A	2.2 A*
Dieta B	80.9 A	80.9 A	19.6 C*	5.4 A*
Dieta C	59.9 A	59.9 A	30.3 BC*	1.6 A*
Dieta D	50.7 A*	76.9 A	87.8 AB	3.2 A*
Testigo	78.9	78.9	155.4	11.7

Notas:

- (1): Dietas seguidas por la misma letra no presentan diferencia significativa al 5% de probabilidad, por la prueba de Tukey; dietas seguidas de asterisco no presentan diferencia significativa con el testigo, a 5% de probabilidad, por la prueba de Dunnett.
 (2): Datos originales transformados a $\text{Raíz}(X + 0.5)$ antes de ser analizados.

De Clercq y Degheele (1992) lograron la fecundidad de *P. maculiventris* y *P. sagitta*, criados en una dieta artificial, significativamente menor que con la alimentación basada en *G. mellonella*. Los autores atribuyeron tal resultado al menor peso de las hembras, basándose en la correlación positiva entre el tamaño del cuerpo y fecundidad, como se observó para *P. maculiventris* (1982) y *P. connexivus* (Zanuncio *et al.* 1992c). Sin embargo, en el presente trabajo, se encontró una fecundidad semejante de *P. nigrispinus* con las dietas A (170.6

huevos) y D (178.6 huevos) en comparación con la alimentación a partir de larvas de *M. domestica* (185.6 huevos), a pesar de que el peso de las primeras era significativamente menor que las del testigo (Cuadro 2).

Las dietas A y D se mostraron nutricionalmente adecuadas para el crecimiento, desarrollo y reproducción de *P. nigrispinus*, no obstante que la aceptabilidad de la dieta artificial, en ninfas y adultos, no alcanzó el nivel esperado. Debido a la

baja aceptación de la dieta, las hembras se alimentaron en cantidades menores y a intervalos más cortos, siendo más bien para el mantenimiento biológico del predator. La menor cantidad de nutrimentos utilizados para la formación de huevos llevó a una baja tasa de oviposición, mayor intervalo de tiempo entre posturas, así como menor número de huevos por postura en las dietas A y D con relación al testigo. Por otro lado este menor desgaste metabólico explicaría su mayor longevidad con relación al testigo.

El canibalismo de una parte de los huevos, con las dietas artificiales A y D, refuerza la hipótesis de la baja aceptación de tales dietas. Sin embargo no se podría concluir que la supervivencia y oviposición de estas hembras se deben al autorreciclaje de nutrimentos. La mayoría de los huevos quedaron intactos y viables, produciendo ninfas en cantidades significativamente iguales que en el testigo (Cuadro 4).

Las dietas artificiales desarrolladas (A y D) estuvieron próximas al ideal, pues permitieron una reproducción de *P. nigrispinus* semejante al producido con larvas de *M. domestica* (testigo), que es una buena presa alternativa. Trabajos posteriores, orientados esencialmente a una mejora en la aceptación alimentaria, apoyarían estas dietas como un buen sustituto de las presas vivas.

LITERATURA CITADA

- ADIDHARMA, D. 1986. The development and survival of *Podisus sagittus* (Hemiptera: Pentatomidae) on artificial diets. *Journal Australian of Entomology Society* 25(1):15-16.
- COHEN, A C 1985. Simple method for rearing the insect predator *Geocoris punctipes* (Heteroptera: Lygaeidae) on a meat diet. *Journal of Economic Entomology* 78:1173-1175.
- DE CLERCQ, P; DEGHEELE, D. 1992. A meat diet for rearing the predatory stinkbugs *Podisus maculiventris* and *Podisus sagitta* (Het.: Pentatomidae). *Entomophaga* 37(1):149-157.
- EVANS, E W. 1982. Consequences of body size for fecundity in the predatory stinkbug, *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae). *Annals of the Entomological Society of America* 75(4):418-420.
- LYASHOVA, L V; ZHEMCHUZHINA, A A; OVASYNKO, E P 1985. Rearing medium for larvae of *Podisus*. *Zaschita Rasteni* 1:53.
- OVASYNKO, E.P; ZHEMCHUZHINA, A A; LYASHOVA, L V 1987. Principles for the use of lyophilized meal of house-fly larvae in artificial feeding media. In *Introduktsiya, akklimatizatsiya i selektsiya entomofagov*. p 14-99.
- SAAVEDRA, J.L.D.; ZANUNCIO, J.C.; DELLA LUCIA, T.M.C.; REIS, F.P. 1992a. Efeito da dieta artificial na fecundidade e fertilidade do predador *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 21(2):69-76.
- SAAVEDRA, J.L.D.; ZANUNCIO, J.C.; DELLA LUCIA, T.M.C.; VILELA, E.F. 1992b. Dieta artificial para crianza de *Podisus connexivus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Turrialba* 42:258-261.
- SUMENKOVA, V.V.; YAZLOVETSKY, I.G. 1992. A simple artificial nutritional diet for the predaceous bug *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae). *Zoologichesk zhurnal* 71(2):52-57.
- THOMAS, D.B. 1992. Taxonomic synopsis of the Asopinae Pentatomidae (Heteroptera) of the Western Hemisphere. Lanham, Maryland, Entomological Society of America. 156 p.
- ZANUNCIO, J.C.; ALVES, J.B.; LEITE, J.E.M.; SILVA, N.R.; SARTÓRIO, R.C. 1990. Desenvolvimento ninfal de *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae) alimentado com dois hospedeiros alternativos. *Revista Árvore* 14(2):164-174.
- ZANUNCIO, J.C.; FREITAS, M.F.; ALVES, J.B.; LEITE, J.E.M. 1992a. Fecundidade de fêmeas de *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae) em diferentes hospedeiros. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 20(2):369-378.
- ZANUNCIO, J.C.; NASCIMENTO, E.C.; SANTOS, G.P.; SARTÓRIO, R.C.; ARAÚJO, F.S. 1992b. Aspectos biológicos do percevejo predador *Podisus connexivus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 20(2):243-249.
- ZANUNCIO, J.C.; DIDONET, J.; SANTOS, G.P.; ZANUNCIO, T.V. 1992c. Determinação da idade ideal para acasalamento de fêmeas de *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae) visando uma criação massal. *Revista Árvore* 16(3):362-367.
- ZANUNCIO, J.C.; BRAGANÇA, M.A.L.; SAAVEDRA, J.L.D.; SARTÓRIO, R.C. 1992d. Avaliações dos parâmetros de fecundidade em fêmeas de *Podisus connexivus* (Hemiptera: Pentatomidae) de diferentes pesos. *Revista Ceres* 39(226):591-596.
- ZANUNCIO, J.C.; ALVES, J.B.; ZANUNCIO, T.V.; GARCIA, J.F. 1994. Hemipterous predators of eucalypt defoliator caterpillars. *Forest Ecology and Management* 65:65-73.

Caracterización de las fracciones limo y arcilla en suelos loésicos del suroeste pampeano en Argentina

M. del C. Blanco*, L.F. Sánchez*

RESUMEN

Se estudió la mineralogía de las fracciones limo (2-20 μm) y arcilla (<2 μm) del material parental y del *solum* de cinco perfiles, por difracción de rayos X y SEM. Los perfiles se localizan en la Llanura Subventánica Occidental Bonaerense en condiciones de régimen de humedad de suelo údico en Sierra de la Ventana, que pasa transicionalmente al ústico cerca de la Costa Atlántica. Se obtuvieron cien difractogramas de muestras naturales, saturadas con K^+ y Mg^{++} + glycol pero sólo algunas se presentan en este artículo. Se concluye que la illita es el mineral principal que coexiste con minerales interestratificados del tipo illita-esmectita y/o clorita-esmectita, cuarzo y feldspatos. La proporción mayor de illita con buena cristalinidad se observa hacia el sector proximal de la Llanura. Los minerales identificados en ambas fracciones son heredados del material parental de la Formación Pampeano, también a partir de la transformación pedogenética de illita en capas interestratificadas irregulares de illita-esmectita. La mineralogía identificada en la secuencia vertical de horizontes interpedónica es homogénea. Los resultados son comparados con muestras de China (Derbyshire 1983) y EE.UU. (Ruhe 1983), observándose una asociación mineral diferente. No existe relación directa entre los minerales identificados y la variación en el régimen de humedad de los suelos desde údico hasta ústico en la extensión de la transecta.

Palabras claves: Rayos X- SEM, Llanura Subventánica, loes, limo, arcilla.

SUMMARY

The silt (2-20 μm) and clay (<2 μm) mineralogy of soil parent material and *solum* has been studied by X-Ray diffraction and SEM. The profiles are located in the Llanura Subventánica Occidental Bonaerense under an udic soil moisture regime in the Sierra de la Ventana, gradually changing to an ustic regime near the Atlantic coast. One hundred diffractograms were obtained from natural samples, all saturated with K^+ and Mg^{++} plus glycol, but only some were selected for presentation in this paper. It was concluded that illite was the main clay mineral, coexisting with mixed layers of illite-smectite and/or chlorite-smectite, together with quartz and feldspars. The main proportion of illite with clear crystallinity was observed in the proximal sector of the plain. The clay minerals identified in both fractions were inherited from loessic parent material of the Pampeano Formation, and also from pedogenetic transformation of illite in interstratified layers of illite-smectite. The clay mineralogy identified in the interpedonic vertical horizon sequence was homogeneous. The results were compared with samples from China (Derbyshire 1983) and USA (Ruhe 1983) and a different mineral association was observed. There was no direct relation between the clay minerals identified and the spatial variation in soil moisture regimes from udic to ustic.

Key words: X Ray- SEM, Llanura Subventánica, loess, silt, clay.

INTRODUCCIÓN

La Llanura Subventánica Occidental Bonaerense constituye el sector sudoccidental de la Región Pampeana Argentina, extendiéndose desde Sierra de la Ventana hasta la Costa Atlántica, distante 600 km de la ciudad de Buenos Aires y aproximadamente 120 km de la ciudad de Bahía Blanca. Conforman una llanura pedemontana cuya pendiente general

decrece hacia la proximal, media y distal. El paisaje en el sector Costa Atlántica y está subdividida en tres secciones: proximal es de planos extendidos, vinculados al relieve serrano, en el sector medio es ondulado a suavemente ondulado y se presenta como planos extensos en el sector distal. La precipitación media anual decrece en dirección NE-SW desde Sierra de la Ventana (809 mm) hasta la Costa Atlántica (538 mm), observándose un pasaje transicional de un régimen de humedad de suelo údico típico al tempústico típico en la misma dirección.

El material parental de los suelos estudiados está constituido por sedimentos loésicos de la Formación Pampeano, o sus redepositos (D'Orbigny 1842; Darwin (1846) en Frenguelli 1925), también

Recibido el 18 de enero de 1994

Los autores agradecen al CONICET, Argentina, por otorgar los fondos para desarrollar esta investigación; al Dr. Pedro J. Maizza por efectuar los difractogramas; al CRIBABB por permitir el uso del SEM y al Sr. Rubén Correa por cooperar en las tareas de campaña

Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Arg.

denominado Pampiano y Postpampiano (Tricart 1973), extensamente desarrollados en el área interserrana y pedemontana (Fidalgo *et al.* 1975). Los perfiles presentan morfologías relativamente contrastantes y variaciones texturales interpedónicas que indican que la cobertura loésica superficial no es tan homogénea como indican los estudios generalizados.

La mayoría de los trabajos mineralógicos de la región Pampeana concentran información del noreste de la Provincia de Buenos Aires y Santa Fe. Sin embargo son escasos los datos (Scoppa 1973; Lüters 1982; Blanco 1986) en el área de la Llanura Subventánica, estudiada en relación con los procesos pedogenéticos ocurrientes. El objetivo de este trabajo es presentar una caracterización mineralógica de las fracciones limo (2-20 μm) y arcilla (<2 μm), tanto de los materiales originarios como del *solum*, en relación con la consecuente evolución del suelo en función de los factores clima, topografía y material parental en diferentes paisajes del sudoeste pampeano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron cinco perfiles de suelos con morfologías y texturas relativamente contrastantes en una transecta con orientación NE-SW en 120 km de extensión, en la cual se registra un decrecimiento de los valores de precipitación en la misma dirección. A cada perfil se le asigna un nombre local y se describe de acuerdo al *Soil Taxonomy* (USDA 1994). Se tomaron muestras perturbadas sobre las que se efectuaron las siguientes determinaciones: Distribución por tamaño de partículas, previa remoción de carbonato con ácido acético al 10% y materia orgánica usando agua oxigenada al 30 por ciento. No se efectuó remoción de óxidos de hierro. Las subfracciones de arena se seleccionaron utilizando una columna de tamices y las fracciones limo y arcilla por el método de la pipeta. Carbonato de calcio: calcímetro de Bernard; carbono orgánico: Walkley y Black; nitrógeno total: Kjeldahl; fósforo: Olsen; reacción del suelo: pH suelo: agua, suelo-KCl:1:2.5.

Las muestras de arcilla (<2 μm) y limo (2-20 μm) se estudiaron por difracción de rayos X en un difractómetro Rigaku Modelo Geiger Flex D max-III C en las siguientes condiciones operativas:

35 kV, 15 mA y anticátodo de Cu entre 3° y 30°. Considerando que el análisis de los difractogramas ofrece dificultades en la identificación de minerales arcillosos interestratificados entre 6° y 3°, se procedió a irradiar la muestra entre 3° y 15° aplicando un programa de computación para la identificación de los picos. Para disminuir el ruido (*background*) se aplicó un factor de suavizamiento de 45 entre 3° y 15°, obteniendo mayor definición en las arcillas interestratificadas. Las muestras se irradiaron en condiciones naturales, saturadas con K⁺ y Mg⁺⁺ más glycol. La fracción limo también se estudió por difracción. De 100 difractogramas realizados sólo se seleccionaron algunos por razones de espacio. Posteriormente la fracción arcilla se observó por medio de un microscopio electrónico de barrido (SEM) JEOL J-SM 35 CF. La preparación de la muestra consistió en colocar una gota de suspensión agua/arcilla sobre un cubreobjeto, dejándola secar a temperatura ambiente. Luego se colocó en un Sputter Coater modelo 3 y se metalizó con Au en un espesor de 200°A por metalización por plasma de argón, trabajando a un potencial de 6 kV para lograr mayor detalle.

Caracterización y clasificación de perfiles

La descripción morfológica, los datos analíticos y la clasificación de los perfiles estudiados se presentan en los cuadros 1 y 2. El perfil 1-Muzzi, localizado en el sector distal de la llanura, es moderadamente profundo. Sus horizontes de diagnóstico son un epipedón mólico y un horizonte cálcico por encima de la capa de tosca (horizonte petrocálcico). Los perfiles 2-Napostá y 3-Tres Picos se presentan en un paisaje ondulado del sector medio, con un horizonte petrocálcico subyacente. Se diferencian por sus texturas y por el contenido de carbonato de calcio, siendo el perfil 2 calcáreo desde la superficie y el perfil 3 totalmente lavado de carbonato de calcio. El Perfil 4- Tornquist es suelo de la porción proximal de la Llanura pedemontana que ocupa posiciones de planos extendidos. Debajo del epipedón mólico presenta un horizonte argílico con cutanes oscuros y continuos sobre la superficie de los "peds". El Perfil 5-Sierra Ventana ocupa posiciones de ladera de lomada interserrana, también del sector proximal. No presenta capa de tosca en la base del perfil, ni un horizonte iluvial sino un perfil simple con un grado decreciente de melanización desde el epipedón mólico hacia el horizonte C.

Cuadro 1. Características morfológicas y granulométricas de los perfiles estudiados.

Horizonte	Profundidad (cm)	Color húmedo	Estructura*	Distribución de tamaño de partículas (mm)						
				arcilla	limo	AMF	AF	AM	AG	AMG
				< 0.002	0.05-0.002	0.1-0.05	0.25-0.1	0.5-0.25	1.0-0.5	2.0-1.0
PERFIL 1 - MUZZI - Haplustol petrocálcico, térmico, franco fino.										
Ap	0-10	10YR 3/3	bsa,m,m	29.76	32.67	19.86	13.23	3.92	0.53	---
AC	10-28	10YR 3/2	bsa,m,m	34.94	28.15	22.59	10.98	3.03	0.21	0.1
C1	28-39	10YR 3/4	bsa,f,d	32.18	31.82	20.50	11.97	3.22	0.21	0.1
Ck1	39-69	10YR 7/3	bsa,f,m	30.40	37.75	18.01	9.12	3.51	0.94	0.23
2Ckm2										
PERFIL 2 - NAPOSTA - Calciustoll petrocálcico, térmico, franco grueso.										
Ap	0-13	10YR 3/3	gs	17.27	33.30	33.40	9.57	5.93	0.31	0.21
AC	13-37	10YR 3/3	bsa,f,d	16.75	33.08	33.82	10.03	6.09	0.23	---
C1	37-53	10YR 3/4	bsa,f,d	19.33	33.03	32.34	9.55	5.52	0.23	---
2Ckm										
PERFIL 3 - TRES PICOS - Paleustoll petrocálcico, térmico, franco fino.										
A1	0-27	10YR 3/1	bsa,m,m	19.44	6.77	16.78	23.40	33.16	0.3	0.1
AC	27-47	10YR 3/2	bsa,f,d	21.41	6.73	17.50	22.72	31.22	0.3	0.1
C1	47-113	10YR 4/4	bsa,m,d	22.75	7.29	18.79	23.29	27.68	0.2	---
2Ckm										
PERFIL 4 - TORNQUIST - Paleustoll petrocálcico, térmico, franco fino.										
A1	0-14	10YR 3/2	bsa,m,m	28.42	37.31	9.82	12.02	11.81	0.52	0.10
Bt	14-32	10YR 3/1	bsa,f,f	44.89	32.33	8.62	7.66	6.28	0.11	0.11
BC	32-44	10YR 3/3	bsa,f,f	32.88	40.53	9.11	8.90	8.06	0.31	0.21
C1	44-56	10YR 4/3	bsa,m,m	40.27	32.68	8.91	9.64	8.19	0.31	---
2Ckm										
PERFIL 5 - SIERRA VENTANA - Hapludoll típico, térmico, franco fino.										
A1	0-19	10YR 3/3	bsa,f,d	25.93	34.76	33.04	4.61	1.10	0.44	0.11
Bw	19-45	10YR 3/3	bsa,f,m	34.24	40.13	21.11	4.20	0.21	0.10	---
C1	45-77	10YR 3/4	bsa,g,m	14.63	36.18	39.20	8.58	1.41	---	---
C2	77-150+	10YR 4/4	bsa,g,d	7.57	29.19	50.05	7.63	2.58	1.40	0.86

Nota: (*) Estructura: Tipo, bsa: bloques subangulares; gs: grano simple, clase; g: grueso; m: medio; f: fino. Grado, f: fuerte, m: moderado, d: débil.

Cuadro 2. Características químicas de los perfiles estudiados.

Horizonte	pH 1:2.5		CO (%)	Nt (%)	P (mg kg) ⁻¹	CaCO ₃ (%)	complejo de cambio				
	H ₂ O	KCL					CIC	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Na ⁺⁺	K ⁺
PERFIL 1 - MUZZI - Paleustoll petrocálcico, térmico, franco fino.											
Ap	6.3	5.1	1.67	0.161	26.6	0.6	18.7	16.7	3.6	0.1	4.1
AC	6.7	5.7	1.00	0.107	4.4	0.8	20.8	20.7	4.4	0.2	3.6
C1	7.7	6.2	0.67	0.083	5.3	0.8	21.6	24.5	5.1	0.3	2.6
ck1	8.5	7.2	0.40	0.054	0.9	32.6	15.0	35.4	8.4	0.4	0.8
2Ckm ²											
PERFIL 2 - NAPOSTA - Calciustoll petrocálcico, térmico, franco grueso.											
Ap	7.9	7.0	1.96	0.230	4.8	1.9	15.5	35.1	1.3	0.1	2.2
AC	8.1	7.1	1.61	0.177	2.0	4.4	14.5	33.0	1.3	0.2	1.7
C1	8.2	7.2	1.00	0.104	1.1	9.4	11.5	32.7	1.7	0.3	0.9
2Ckm											
PERFIL 3 - TRES PICOS - Paleustoll petrocálcico, térmico, franco fino.											
A1	8.2	7.0	0.83	0.077	2.0	0.8	10.1	17.9	1.9	0.1	0.7
AC	8.2	6.9	0.55	0.062	2.0	1.0	10.4	15.2	2.8	0.2	0.7
C1	8.2	6.8	0.30	0.043	1.9	0.7	12.2	14.2	3.2	0.3	0.6
2Ckm											
PERFIL 4 - TORNUQUIST - Paleudoll petrocálcico, térmico, franco fino.											
A1	6.2	5.3	2.16	0.201	27.9	0.4	15.5	15.9	2.9	0.1	2.5
Bt	6.7	5.3	1.38	0.115	4.4	0.4	21.1	19.7	3.8	0.1	1.9
BC	7.2	5.5	0.78	0.081	7.3	0.4	24.2	20.0	4.8	0.2	1.6
C1	7.6	5.8	0.55	0.070	17.3	0.5	25.3	20.8	4.8	0.2	1.6
2Ckm											
PERFIL 5 - SIERRA VENTANA - Hapludoll típico, térmico, franco fino.											
A1	6.3	5.3	2.30	0.207	15.1	0.5	13.8	12.7	2.4	0.1	2.6
AC	6.5	5.3	1.80	0.180	4.6	0.5	13.2	13.0	2.3	0.1	1.9
C1	7.8	6.2	0.34	0.043	13.7	0.4	14.1	12.8	3.3	0.1	1.6

Todos presentan un epipedón mólico y clasifican en el orden Mollisol. Actualmente, las enmiendas efectuadas a *Soil Taxonomy* (1994) permiten clasificar aquellos mollisoles afectados por regímenes de humedad údico-ústico y que contienen un horizonte petrocálcico dentro de los 150 cm de

profundidad, en los subórdenes Udolles-Ustolles respectivamente. El perfil 1- Muzzi clasifica como Paleustoll petrocálcico, ya que los horizontes diagnósticos son: epipedón mólico, horizonte cálcico y petrocálcico. Dado que el perfil 2 reacciona al HCl desde la superficie y que, además del epipedón

mólico, sólo tiene un horizonte petrocálcico a escasa profundidad, ha sido clasificado como Calciustoll petrocálcico. El perfil 3- Tres Picos es un Paleustoll petrocálcico. Sus horizontes diagnósticos son similares al perfil 2, pero se diferencia del anterior porque no presenta reacción al HCl hasta 113 cm de profundidad, a partir de los cuales se extiende el horizonte petrocálcico.

El perfil 4-Tornquist califica como Paleudoll petrocálcico. El horizonte A1 tiene 14 cm de espesor. A partir de esa profundidad y hasta 32 cm, se observan los rasgos de iluviación de arcilla y materia orgánica del horizonte argílico, en tanto se mantienen las características del epipedón mólico. A partir de 56 cm de espesor aparece la capa de tosca (horizonte petrocálcico). El perfil 5- Sierra Ventana tiene además del epipedón mólico un horizonte subsuperficial cámbico. El horizonte C es calcáreo, a pesar de su evolución en régimen de humedad údico. La presencia de carbonatos en el horizonte C, la ausencia del horizonte petrocálcico y la escasa diferenciación de horizontes indican un estadio de evolución reciente. Este suelo se clasificó como Hapludoll típico. En la transecta estudiada, a excepción del perfil 5, los materiales parentales en cuales se desarrolla la pedogénesis suprayacen al manto de tosca (horizonte petrocálcico), localizado a profundidades variables, generalmente no mayores de un metro.

En el sitio del perfil 5 no se observó hasta 2 m de profundidad. En función del contenido de carbonato de calcio, del grado de cementación y fuertes espesores observados en el campo, se atribuye la génesis del horizonte petrocálcico a un ciclo pedogenético antiguo, con características más áridas y frías (?) que las actuales. Marca una paleosuperficie sobre la cual se apoyan, en discontinuidad, los materiales parentales a partir de los cuales progresan los procesos pedogenéticos de los suelos actuales. La discontinuidad entre ambos materiales no indica fuertes diferencias litológicas, sino que se correspondería con diferencias significativas en edad y señalaría una discontinuidad temporal.

Mineralogía de la fracción arcilla

En la Fig. 1 se presentan algunos difractogramas seleccionados entre cien realizados para la fracción

más fina del suelo. La illita es el mineral dominante en todos los perfiles de la transecta estudiada. Se identifica por un pico ancho alrededor de 1 nm, que se presenta más pronunciado y mejor definido en las muestras provenientes del sector proximal (perfil 4-Tornquist y perfil 5-Sierra Ventana) comparado con aquellas del sector medio de la Llanura Subventánica (perfil 2- Napostá y perfil 3- Tres Picos). El desmejoramiento de la calidad de los picos correspondientes a la illita en los perfiles de este último sector se interpreta como un decrecimiento de la cristalinidad de las arcillas que puede ser causada por su posición topográfica inestable y su influencia en el régimen de humedad de suelos.

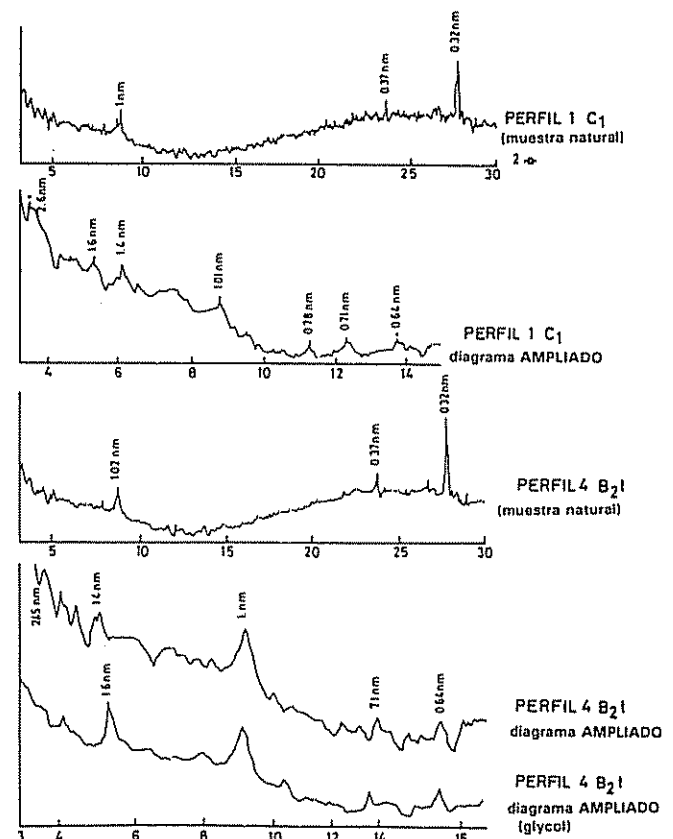


Fig. 1. Difractogramas seleccionados de la fracción arcilla.

Por lo tanto la cristalinidad constituye una nueva variable en los suelos estudiados. Los feldespatos (0.64 nm; 0.33 nm; 0.32 nm; 0.3 nm) y el cuarzo

(0.426 nm) son abundantes como minerales accesorios en todos los perfiles analizados. Por otra parte hacia el sector de los bajos ángulos en el diagrama (entre 2°, 3° y 1°) se reconoce una serie de pequeñas reflexiones que dificultan su identificación, ya que en algunos casos se reconoce el pico de primer orden correspondiente a los minerales arcillosos interestratificados sólo al irradiar la muestra natural. Luego de ser tratada con glycol no se detecta esta reflexión, aunque aún se reconocen pequeños picos de órdenes menores expandidos. Esta particularidad indicaría la irregularidad en la interestratificación. En el horizonte C del perfil 1-Muzzi, además de la illita, se observan reflexiones que se deben a un mineral con distancia basal de 2.65 nm y 2.63 nm (1er orden), además de 1.4 nm (2do orden) y 0.79 nm (3er orden) que se expande hasta 1.63 nm (2do orden), luego del tratamiento con glycol. Estos picos se atribuyen a un mineral interestratificado del tipo clorita-esmectita. Las interestratificaciones identificadas presentan un grado de imperfección en su estructura cristalina que resulta en patrones de difracción de rayos X complejos.

La fracción arcilla de los materiales parentales de los perfiles 2 y 3 del sector medio de la llanura pedemontana está compuesto por illita, capas irregulares de tipo illita-esmectita, cuarzo y feldespato como accesorios.

Las capas de illita-esmectita (2.4 nm, 1.2 nm) expanden hasta 2.81 nm (1er orden) y 1.8 nm (2do orden) por saturación con glycol. También se identifica un pequeño pico en 0.7 nm que se mantiene constante con todos los tratamientos, el cual podría atribuirse a la caolinita.

El perfil 4- Tornquist presenta rasgos de iluviación de arcillas, como cutanes de humus y arcilla en la superficie de los "peds" en los horizontes Bt y BC a partir de 14 cm de profundidad. Las diferencias en el porcentaje de arcilla entre el horizonte eluvial superficial y el Bt iluvial satisfacen los requerimientos para calificar como horizonte argílico. La translocación de arcillas en este perfil no ocurre en un régimen de humedad de suelos údico típico sino transicional al ústico, y los minerales arcillosos que constituyen la fracción < 2 µm, son de illita y interestratificados irregulares de tipo illita-esmectita junto con cuarzo y feldespatos como accesorios. El perfil 5- Sierra Ventana

presenta una mineralogía similar a los anteriores en su fracción más fina diferenciándose sólo por la presencia de un pico en 0.7 nm atribuido a la caolinita. Presenta también esmectita (1.4 nm) que responde al glycolado expandiéndose hasta 1.66 nm y que disminuye su espacio intercapa por saturación con K+.

Comparando la mineralogía de la fracción arcilla de los sedimentos loésicos de la Llanura Subventánica Occidental Bonaerense con algunas muestras de China (Derbyshire 1983), se observa una asociación mineral diferente de acuerdo a las localidades estudiadas. En la terraza loésica de Mengxian, la fracción < 2 µm se compone de cuarzo, feldespatos, calcita, clorita, mica y expandibles interestratificados en 12.6°A cuya composición no pudo establecerse fehacientemente. La mineralogía de esta fracción en loes de la localidad de Landzhou está dominada por cuarzo, feldespato, calcita, illita/hidrómica e interestratificados alrededor de 14°A que no parecen pertenecer al tipo esmectítico.

Como puede apreciarse persisten las dificultades para determinar la composición de los argilominerales interestratificados. Los estudios sobre el loes chino sugieren que la distribución por tamaño de partículas, mineralogía de arcillas y la cementación muestran diferencias con la edad del sedimento. Los minerales arcillosos identificados en el loes de Wisconsin de la Cuenca del Río Ohio (Ruhe 1983) son: caolinita, illita, e interestratificados expandibles (vermiculita-montmorillonita). La meteorización de estos sedimentos loésicos se daría por transformación de vermiculita a montmorillonita, no observándose la transformación illita-caolinita ni illita-esmectita como ocurre en el loes pampeano.

Mineralogía de la fracción limo

Son escasos los datos acerca de la naturaleza de los minerales de la fracción limo (2-20 µm) en el sur de la Región Pampeana Argentina. Esta fracción fue menos estudiada hasta el presente, a excepción de los trabajos aportados por Scoppa (1974), Osterreith (1980), Blanco (1986). Particularmente en la zona de estudio no existen análisis de la fracción limo. Se presentan algunos difractogramas de esta fracción en la Fig. 2. En el perfil 1- Muzzi, los feldespatos (0.64 nm, 0.33 nm, 0.32 nm) son los minerales predominantes sobre el cuarzo y la illita (1 nm). La

composición de esta fracción es homogénea en la secuencia vertical de horizontes del sector distal de la Llanura Subventánica.

Los minerales componentes de la fracción limo del perfil 2- Napostá son similares a los del perfil anterior, diferenciándose por una disminución en la abundancia relativa de las especies identificadas y por un desmejoramiento de la cristalinidad en el sector medio de la Llanura Subventánica. La secuencia de horizontes del perfil 3-Tres Picos presenta una mineralogía similar a los perfiles 1 y 2. Se observa además adecuada cristalinidad y, a diferencia de los anteriores, los difractogramas muestran un pico en 0.84 nm que corresponderían a un silicato primario del tipo piroxeno o anfíbol. La fracción limo de los perfiles 4- Tornquist y 5- Sierra Ventana del sector proximal de la Llanura Subventánica está compuesta por illita y abundantes feldespatos. El perfil 5 se diferencia sólo por una disminución en el contenido relativo de los feldespatos.

El análisis de esta fracción no muestra diferencias significativas en todos los perfiles estudiados, excepto por la variación en la abundancia relativa de los minerales reconocidos. Son dominantes los minerales primarios, sin embargo, tal vez no se debería descartar la probable presencia de interstratificados hacia el sector de los bajos ángulos de los difractogramas.

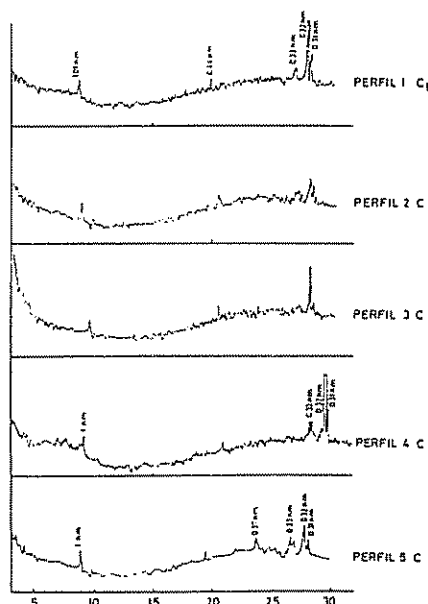


Fig. 2. Difractogramas seleccionados de la fracción limo.

Microscopía electrónica

La caracterización de los minerales por difracción de rayos X muestra la complejidad de su composición. Por tal motivo se procedió a observar las muestras de arcillas por microscopía electrónica con el propósito de distinguir algunas características minerales, especialmente de los interstratificados expandibles.

En la Fig. 3a, se observan partículas discretas de arcilla, planas con algunos bordes netos y otras irregulares que se identifican dentro de los argilominerales del grupo 2:1 como illita. Conjuntamente se observan agregados en los cuales el apilamiento de partículas muestra planos de crecimiento imperfectos que serían responsables de las reflexiones 2.4 nm y 1.2 nm de los interstratificados illita-esmectita. En la Fig. 3b (horizonte C1-perfil 2- Napostá) se muestra un fragmento de vidrio volcánico de 10 μm de longitud (limo fino) angular y sin evidencias de meteorización.

Las características de los minerales arcillosos que lo rodean responden a su naturaleza illítica e interstratificada. Este perfil es de textura franca, es decir que la fracción arcilla está subordinada en contenido a la arena y al limo. A pesar de ello se seleccionó este horizonte para efectuar observaciones en SEM debido a que el bajo contenido de arcilla permitió una dispersión adecuada de la muestra, evitando el apelmazamiento de las partículas. En el primer plano (Fig. 3c), se presenta un agregado conformado por el apilamiento de partículas elementales apoyadas una sobre la otra en una sucesión irregular de capas. Entre las partículas < 2 μm predominan las de 1 μm , destacándose en ellas bordes angulares definidos y crecimiento en capas, cuya laminación no se distingue claramente, atribuyéndose a la illita y los interstratificados irregulares de tipo illita-esmectita y/o clorita-esmectita (Fig. 3d). En las muestras del horizonte C (perfil 1) se observó además la presencia de arcillas esmectíticas cuyos bordes se curvan sobre sí mismos.

CONCLUSIONES

Desde el punto de vista mineralógico los análisis efectuados a las fracciones limo y arcilla de los

suelos de la Llanura Subventánica Occidental Bonaerense permiten concluir que:

— El mineral arcilloso fundamental en la cubierta pedológica es la illita, la cual coexiste además con minerales interstratificados de tipo illita-esmectita y/o clorita-esmectita, esmectita, conjuntamente con feldespatos y cuarzo como accesorios.

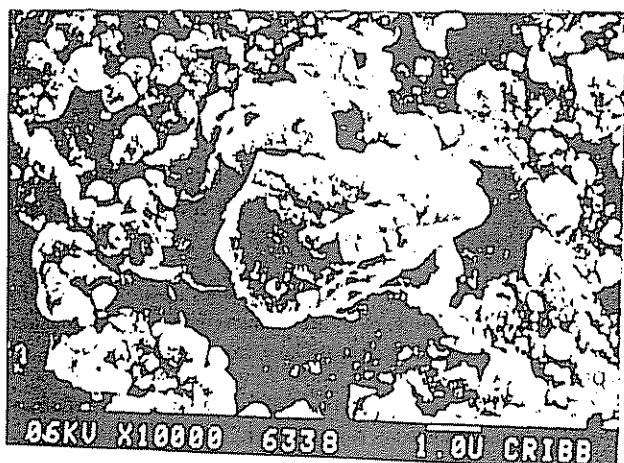
— La fracción limo (2-20 μm) de estos suelos contiene fundamentalmente silicatos primarios como cuarzo y feldespatos, además de algunos minerales máficos del tipo piroxeno o anfíbol junto con mica.

— La mayor proporción relativa de illita con mejor desarrollo cristalino se observa hacia el sector

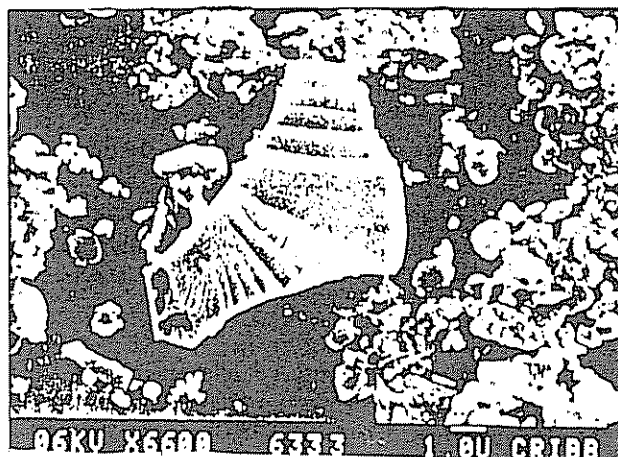
proximal de la Llanura Subventánica Occidental.

— La composición de la fracción arcilla en la transecta estudiada es una propiedad heredada del material parental de tipo loésico de la Formación Pampeano, en la cual se reflejan además procesos pedogenéticos de transformación de intensidad moderada.

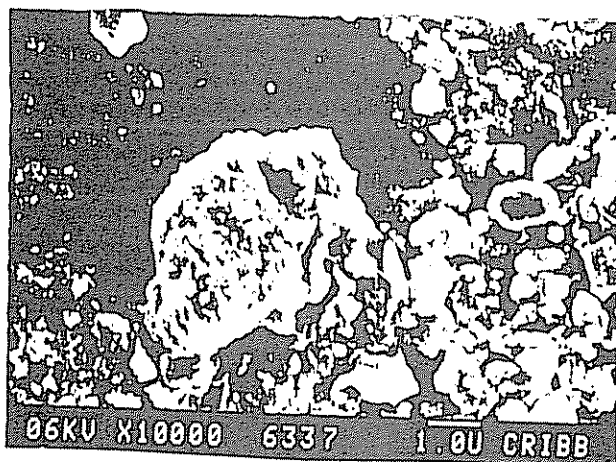
— La existencia de minerales interstratificados en estos suelos corresponde a una etapa de evolución pedogenética de las arcillas en un proceso de transformación del mineral de partida -illita- que pasa por la fase intermedia illita-esmectita.



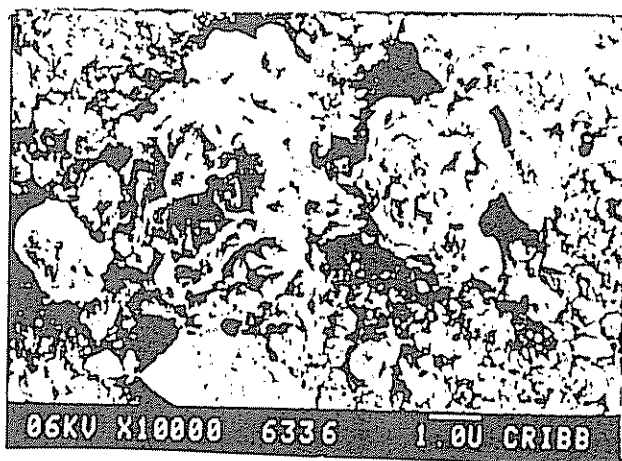
a)



b)



c)



d)

Fig. 3. a) Partículas de arcilla plana; b) fragmento de vidrio volcánico; c) apilamiento de partículas elementales; d) partículas con bordes angulares definidos y crecimiento en capas.

— La intensificación del proceso de translocación de arcillas hacia el sector proximal de la Llanura Subventánica Occidental observable en las descripciones morfológicas, no se refleja en una diferenciación mineralógica de la fracción pelítica resultante de los procesos de neoformación.

— Las características físico-químicas que dominan los procesos pedogenéticos de los suelos loésicos de esta región están determinados por un pH neutro en el tope, el cual se torna ligeramente alcalino hacia la base de los perfiles. El catión dominante en el complejo de intercambio es el Ca^{++} , y la CIC determinada está en correspondencia con los minerales arcillosos identificados. Este ambiente de meteorización tiene un efecto aparentemente moderado en la pedogénesis de los minerales arcillosos.

— Se destaca la homogeneidad en la naturaleza de los minerales componentes de las fracciones de limo y arcilla en la secuencia interpedónica de horizontes. Considerando los minerales 2:1 de la fracción arcilla, los perfiles se encuentran en un estadio de evolución de reciente a intermedio (Jackson (1968), en Sys 1985).

— En este estudio no se observó relación directa entre el tipo de minerales arcillosos y las variaciones en la granulometría de los materiales parentales. Tampoco se ha establecido una correspondencia entre los minerales de la fracción arcilla y las progresivas variaciones edafoclimáticas en la extensión de la transecta.

LITERATURA CITADA

- BLANCO, M. del C. 1986. Micromorphology and mineralogy of the Humid Pampa. Gante, Bélgica. 112 p.
- DERBYSHIRE, E. 1983. Origin and characteristics of some Chinese loess at two locations in China. *Developments in sedimentology* 38. *Eolian Sediments and Processes* (Holanda). p. 69-90.
- FRENGUELLI, F.; DE FRANCESCO, F.; PASCUAL, R. 1975. Geología superficial de la Provincia de Buenos Aires. In *Congreso Geológico Argentino* (6. Bahía Blanca) Relatorio p. 103-139.
- FRENGUELLI, J. 1925. Loess y limos pampeanos. Universidad Nacional de La Plata. Serie Técnica y Didáctica no 7 p. 1-88.
- LÜTERS, J. A. 1982. Edafogénesis de la climosecuencia existente entre el SE de la Provincia de La Pampa y el Litoral Atlántico. Tesis Magister. Bahía Blanca, Arg. Universidad Nacional del Sur. 200 p.
- OSTERREITH, M. 1990. Mineralogía de los suelos más representativos del Partido de Magdalena. IX RACS, Paraná, Arg.
- RUHE, R. 1983. Clay minerals in thin loess: Ohio River Basin. *Developments in Sedimentology* 38. *Eolian Sediments and Processes* (Holanda) p. 69-90.
- SCOPPA, C. 1973. La mineralogía de los suelos de la Llanura Pampeana en la interpretación de su génesis y distribución. 7º RACS, IDIA, Bahía Blanca, Arg. Suplemento 33.
- SCOPPA, C. 1974. The pedogenesis of a sequence of Mollisols in the Undulating Pampa. Ph.D. Thesis. Gante, Bélgica. 158 p.
- SOIL SURVEY STAFF. 1992. Keys to Soil Taxonomy (1994) 6a ed. USDA Soil Conservation Service. 306 p.
- SYS, C. 1985. Pedogenesis: Introduction to the study of soil forming factors.
- TRICART, J. 1973. Geomorfología de la Pampa Deprimida: Plan Mapa de Suelos de la Región Pampeana. INTA, Arg. Colección Científica.

Evaluation of tiazofurin antiviral effect on tomato spotted wilt virus (TSWV) in field experiments

J. Caner^{*}, M. A. V. Alexandre^{**},
A. P. C. Alba^{**}, M. Vicente^{**}

ABSTRACT

Field experiments were carried out over two years to evaluate the inhibitory effect of Tiazofurin (TR) against tomato spotted wilt virus (TSWV) in tomato plants. The plants, mechanically inoculated with TSWV one week after transplantation, were sprayed with 100 mg/l TR solution. It was observed that two sprays, one applied immediately and the other 24 h or 120 h after inoculation, were efficient to control the virus. The productivity of inoculated, treated tomato plants, evaluated by total weight of fruits, was almost twice that of those inoculated but nontreated. TR antiviral effect could be observed in both experiments and no phytotoxic effect was verified. Although TR residual effect has not been evaluated to date, the drug demonstrated an efficient inhibitor effect against TSWV, suggesting the possible control of the virus under field conditions.

Key words: Antiviral chemotherapy, tomato spotted wilt virus (TSWV), Tiazofurin.

RESUMO

Experimentos de campo foram realizados durante 2 anos a fim de avaliar o efeito inibidor do Tiazofurin (TR) sobre o vírus do vira-cabeça do tomateiro (TSWV) em plantas de tomate. Os tomateiros, inoculados mecanicamente 1 semana após o transplante, foram pulverizados 2 vezes com TR (100 mg/l). Observou-se que 2 pulverizações, uma aplicada imediatamente e a outra 24 h ou 120 h após a inoculação, foram eficientes no controle do TSWV. A produtividade das plantas inoculadas e tratadas, avaliada pelo peso total dos frutos, foi quase o dobro daquelas inoculadas e não tratadas. O efeito antiviral do TR pôde ser verificado nos dois experimentos, não tendo sido observado efeito fitotóxico. Embora o efeito residual do TR não tenha ainda sido avaliado, o quimioterápico mostrou-se um eficiente inibidor do TSWV, sugerindo um possível controle dessa virose, em condições de campo.

Palavras-chave: Quimioterápico antiviral, vírus do vira-cabeça do tomateiro (TSWV), Tiazofurin.

INTRODUCTION

Tiazofurin (2 - B - D - ribofuranosylthiazole - 4 -carboxamide) = TR, an antiviral compound structurally related to Ribavirin (Streissle *et al.* 1985), was tested against both human and plant viruses (Caner *et al.* 1984; Koening 1981; Srivastava *et al.* 1977). Although very few tests were carried out using plant viruses, it was demonstrated, under glasshouse conditions, that TR had an inhibitory effect on tomato spotted wilt virus (TSWV) in tomato and tobacco plants, potato virus X in tobacco plants, and barley stripe mosaic virus in barley and wheat plants (Caner *et al.* 1984; Hansen 1989; Srivastava *et al.* 1977). However, the results of TR under field conditions have been restricted to date. In

preliminary results, 95% of tomato plants inoculated with TSWV and sprayed with 100 mg/l TR solution remained without symptoms (Caner *et al.* 1986a). In order to confirm these results, tomato plants under field conditions were inoculated with TSWV and then treated with TR, to evaluate the antiviral effect of this chemical. The experiment was repeated over two years.

MATERIAL AND METHODS

Tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Santa Cruz") were chosen as systemic hosts for tomato spotted wilt virus (TSWV). Two groups of one month-old tomato plants were mechanically inoculated with TSWV one week after transplantation to the field. The virus inoculum consisted of a crude-sap TSWV preparation in the proportion of 1 g infected tomato leaves to 5 ml sodium sulphite at 0.5%. The plants were distributed in the field according to the culture prescriptions in random

^{*}Received March 17, 1992

^{**}Seção de Virologia Fitopatológica e Fisiopatologia, Instituto Biológico C P 7119, 01064-970, S. Paulo -SP, Bra

^{**}Seção de Virologia Fitopatológica e Fisiopatologia, Instituto Biológico C P 7119, 01064-970, S. Paulo -SP, Bra ; fellows of CNPq

blocks. During the inoculation, the inoculum was kept at a low temperature to maintain virus infectivity.

Tiazofurin (TR) was diluted to 100 mg/l with distilled water. Tween-20 was added as wetting

agent, in the proportion of one drop per 100 ml of solution. TR was sprayed on all tomato leaves until dripping occurred. The treatments with TR consisted of two sprays, the first immediately after inoculation, and the second 24 h or 120 h after the first one (Tables 1 and 2).

Table 1. Effect of Tiazofurin (TR) on tomato plants.

Experiment	Treatment	Percentage of systemically infected plants days after inoculation				
		15	20	25	30	90
I	TR(2X)*+ TSWV	0	0	0	5	10
	H ₂ O + TSWV	80	80	90	100	100
	Non-inoculated non-treated	0	0	0	20	20

* After inoculation and 120 h after inoculation; 20 plants per treatment.

II	TR(2X)** + TSWV	0	0	0	5	11
	H ₂ O + TSWV	83	83	83	83	83
	Non-inoculated non-treated	0	0	17	17	39
	Non-inoculated treated	0	0	0	17	22

** After inoculation and 24 h after inoculation; 18 plants per treatment.

Table 2. Effect of Tiazofurin (TR) on the productivity of tomato plants.

Experiment	plants (%) which produced fruits	medium weight of fruits (g)	number of fruits per plant	total weight of fruits per plant (g)
I				
TR(2X) + TSWV	100	45.2	21	977.1
H ₂ O + TSWV	0	-	0	0
Non-inoculated non-treated	90	39.9	28	1 117.7
II				
TR(2X)+ TSWV	100	71.3	15	1 060.5
H ₂ O + TSWV	17	74.2	8	569.5
Non-inoculated non-treated	83	62.5	14	884.9
Non-inoculated treated	92	70.3	16	1 160.8

Control plants received distilled water plus Tween-20 in the same proportion as treated plants. Noninoculated and nontreated plants were maintained in the field to evaluate the natural virus infection. In one of the experiments, plants noninoculated, but TR-treated were used as controls to observe possible phytotoxic effects and whether the drug interfered with fruit production.

Observations on the number of systemically infected plants were made 15, 20, 25, 30 and 90 days after inoculation. The productivity evaluation, consisting of determining percent of plants which produced fruits, number of fruits per plant, the medium weight of the fruits and the total weight of the fruits per plant, was made at the end of the experiment, three months after inoculation.

To compare by indirect ELISA the viral content in plants submitted to the different treatments, one upper non-inoculated leaflet was collected from each plant and crushed in a mortar in 0.01 M phosphate buffer, pH 7 (1 g/10 ml). Ten plants were chosen at random for each treatment, 20 days after inoculation. Extracts were centrifuged (2500 g - 5 min) and supernatants were diluted 1:100 with 0.05 M sodium carbonate buffer, pH 9.6. Antiserum to TSWV was diluted 1:80 000 with phosphate-buffered saline containing 0.05% Tween-20 and 2% polyvinyl pyrrolidone 40 000 (PBSTP₀). Viral antibodies were detected by alkaline phosphatase-labeled anti-rabbit IgG diluted 1:1000 with PBSTP₀; P-nitrophenyl phosphate, at 1 mg/ml in 0.1 M diethanolamine buffer, with pH 9.8 used as substrate. After 120 min of hydrolysis, 50 μ l of 3 M NaOH was added to each well and serological reactions were assessed by readings of absorbance at 405 nm (Melissa *et al.* 1989).

RESULTS

No phytotoxicity could be observed in tomato plants sprayed twice with TR after inoculation. Table 1 shows the percentage of plants treated with Tiazofurin and systemically infected with TSWV (TR + TSWV), in comparison with control groups. In experiment I, the results showed that TR sprayed twice (immediately and 120 h after inoculation) inhibited TSWV infection for up to 90 days after inoculation, presenting only 10% of plants with systemic symptoms. Inoculated controls presented 80% of infection as early as 15 days after inoculation; the percentage increased to 100% 15 days later. In this experiment, natural field infection was low (20%).

In experiment II, two TR sprays were applied with a 24 h interval, in an attempt to further reduce TSWV infection. In this case, the percentage of TSWV-infected plants presented a reduction of 72% in relation to inoculated nontreated control plants. The results were very similar to those obtained in experiment I, in which the interval between TR treatments had been 120 h. In experiment II, natural infection was also low (39%) and TR treatments were not phytotoxic. By means of ELISA on leaf extracts of experiment II (Fig. 1), it was demonstrated that virus content of inoculated and treated plants proved to be similar to those of control groups (noninoculated treated plants and noninoculated nontreated plants). In contrast, ELISA of leaf extracts of inoculated and nontreated plants revealed a higher content of TSWV antigens.

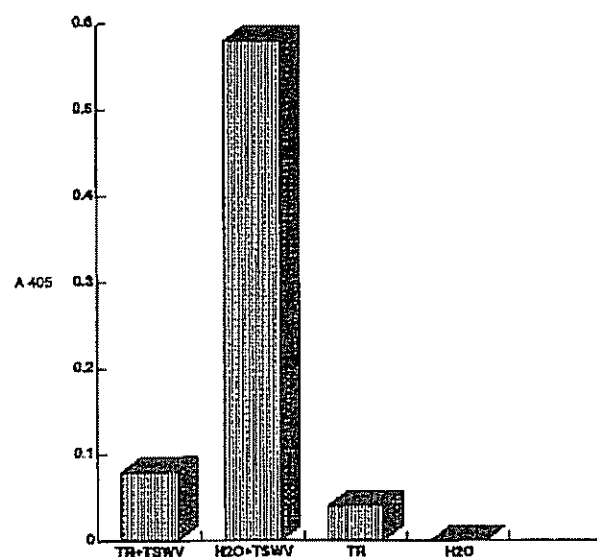


Fig. 1. Average readings (A_{405}) of indirect ELISA of leaf extracts of different treatments (Experiment II).

In the productivity evaluation, results of experiments I and II showed that TR-treated groups produced a higher percentage of plants with fruits than nontreated controls (Table 2). Large differences between treated and control groups could also be seen in the total weight of fruits per plant. In both experiments, the number of fruits from treated plants was greater than that of nontreated plants; in experiment I, this effect was much more accentuated. The medium weight of fruits produced

by treated and controls did not show significant differences.

DISCUSSION

Tiazofurin showed, under field conditions, an antiviral effect against TSWV on mechanically inoculated tomato plants confirming preliminary results (Caner *et al.* 1986a) and also results obtained under glasshouse conditions (Caner *et al.* 1984).

In the experiments where two TR sprays were applied in tomato plants, no visible phytotoxic effect was observed. However, Caner *et al.* (1986a) verified phytotoxicity of TR, consisting of a strong chlorotic and mottling of the leaves, when the drug was applied on tobacco plants through sprays of 100 and 200 mg/l. This shows the selective effect of TR, not only in relation to phytotoxicity, but also in relation to its antiviral activity, since TR was able to control TSWV in tomato and tobacco plants, but not tobacco streak virus and tobacco mosaic virus in tobacco plants (Caner *et al.* 1986b).

Nagy *et al.* (1989), working with TR against barley stripe mosaic virus, applied the drug at various time intervals before and after inoculation and verified that two applications were more efficient in controlling the virus than one, although some phytotoxicity has been observed.

The antiviral effect of TR was shown in the two experiments and it was evident that two sprays resulted in low percentages of systemically infected plants TR-treated, in comparison with nontreated controls. These results were confirmed by ELISA, carried out with leaf extracts in experiment II, which indicated that no virus could be detected after TR treatment in plants with no symptoms.

Productivity of treated groups, as evaluated by the total weight of fruits per plant, was almost twice that of inoculated and nontreated controls. The average weight of the fruits, however, was similar in all groups, since treated and nontreated plants which produced fruits, probably contained either low virus concentrations or no virus.

The biochemical mechanism of TR action has been studied in animal systems, indicating that the drug would indirectly affect glycoprotein biosynthesis

by inhibiting the reaction catalyzed by IMP dehydrogenase (Nagy *et al.* 1989). However, since in plant systems, this mechanism was not investigated, these results cannot necessarily be extrapolated to live plants.

Although TR has been used as an experimental drug and experiments related to its residual effects have not been conducted to date. TR proved to be an effective plant virus inhibitor, suggesting its possible use in controlling TSWV under field conditions.

LITERATURE CITED

- CANER, J.; ALEXANDRE, M.A.V.; VICENTE, M. 1984. Effect of Tiazofurin on plants infected with tomato spotted wilt virus. *Antiviral Research* 4:325-331
- CANER, J.; ALEXANDRE, M.A.V.; VICENTE, M. 1986a. Effect of tiazofurin on TSWV infected tomato plants in field conditions. *Fitopatologia Brasileira* 11:308.
- CANER, J.; ALEXANDRE, M.A.V.; VICENTE, M. 1986b. Ação diferencial do Tiazofurin sobre quatro vírus fitopatogênicos em plantas de fumo. *Fitopatologia Brasileira* 11:1009-1013.
- DE FAZIO, G.; VICENTE, M. 1991. Antiphytoviral drugs against tomato spotted wilt virus. *Turrialba (C.R.)* 41:44-253.
- HANSEN, A.J. 1989. Antiviral chemicals for plant disease control. *CRC Critical Reviews in Plant Sciences* 8(1):45-88
- KOENIG, R. 1981. Indirect ELISA methods for the broad specificity detection of plant viruses. *Journal of General Virology* 55:53-62
- MELISSA, E.; SANT POINER, A.; HARSANYI, M.C.; LYONS, S.D.; CHRISTOPHERSON, R.I. 1989. Chromatographic analysis of purine precursors in mouse L. 1210 leukemia. *Analytical Biochemistry* 182:121-128
- NAGY, P.D.; GABORJÁNYI, R.; KOVÁCS, L.; FARKAS, I. 1989. Antiviral activity of Tiazofurin against barley stripe mosaic virus. *Antiviral Research* 11:41-46.
- SRIVASTAVA, P.C.; PICKERING, M.V.; ALLEN, L.B.; STREETER, D.G.; CAMPBELL, M.T.; WITKOWSKI, J.T.; SIDWELL, R.W.; ROBINS, R.K. 1977. Synthesis and antiviral activity of certain thiazole C' nucleosides. *Journal Medical Chemistry* 20:256-262.
- STREISSLE, G.; PAESSENS, A.; OEDIGER, H. 1985. New antiviral compounds. *Advances Virus Research* 30:83-138

Análisis retrospectivo del uso de inoculantes con cepas elite en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en México¹

J.Z. Castellanos*, J.J. Peña-Cabriales**,
I. Rojas-Martínez*

RESUMEN

Se analizaron los informes de 46 experimentos con inoculantes, llevados a cabo en México durante los últimos 15 años, en revistas científicas, memorias de congresos, tesis universitarias e informes técnicos de campos experimentales. El análisis consistió en revisar los datos de nodulación y rendimiento de tres tratamientos: a) inoculado, b) testigo positivo de N (N+), y c) testigo negativo de N (N-). En relación al rendimiento se usaron dos criterios de comparación: estadístico ($P < 0.05$) y de aumento del 10% en dicho rendimiento. La consistente nodulación del tratamiento N- a niveles similares al tratamiento inoculado, indica la alta presencia de cepas nativas de *Rhizobium* en todas las localidades. El análisis global de los datos de rendimiento determina que sólo en el 11% de los experimentos el tratamiento inoculado superó estadísticamente ($P < 0.05$) al testigo N-. Para evaluar la efectividad de la inoculación se compararon los tratamientos N+ versus inoculado solamente en sitios con bajo N disponible en el suelo. Dichos resultados indicaron que, en condiciones de riego, en el 50% de las localidades la inoculación satisfizo la demanda de N y en temporal el éxito de la inoculación llegó sólo al 36 por ciento. El éxito global resultó en 41 por ciento. Los datos de la presente revisión indican que la vía de la inoculación no ha sido suficientemente exitosa para incrementar la fijación biológica de N₂, entre tanto los trabajos realizados para seleccionar genótipos de alta capacidad de fijación han sido muy limitados; sin embargo es, a través del genótipo, donde hasta ahora existe el mayor potencial para incrementar el N fijado.

Palabras clave: *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseoli, inoculación, nodulación.

ABSTRACT

With the aim of evaluating the agronomic significance of *R. leguminosarum* bv. phaseoli inoculants under field conditions in Mexico, the present study analyzed 46 field experiments generated during the last 15 years. The data were obtained from scientific papers, technical reports, dissertations, theses and congress proceedings. The analysis consisted of reviewing data on nodulation and yields of three treatments: a) inoculated with best available strains, b) control N+, and c) control N-. Two criteria were used to compare the grain yield of the treatments: a) statistical ($P < 0.05$) and, b) 10% yield increase. Similar nodulation patterns were observed between N- control and the inoculated treatments, which indicates the high presence of native rhizobia in all growing locations. Total yield analysis indicated that only in 11% of the trials did the inoculated treatment overcome the N-control. To evaluate the effectiveness of the inoculation, treatments N- vs. the inoculated one were compared in locations of low available nitrogen only. Under irrigation conditions the inoculated treatment satisfied the crop demand of N in only 50% of the trials. Under rainfed conditions, success for inoculation occurred in only 36% of the trials; overall inoculation success was only 41%. The data indicate that, to date, inoculation has not been successful enough in increasing BNF in dry beans; therefore, it is recommended to place a higher priority on selection of plants with a high capacity for nitrogen fixation.

Key words: *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseoli, inoculation, nodulation, trials.

INTRODUCCIÓN

El frijol en México se cultiva desde hace 6000 a 7000 años (Kaplan y Kaplan 1988) y la evolución de esta especie probablemente ha sido paralela a la de su correspondiente microsimbionte, por la cual existe gran diversidad de cepas nativas de esta

bacteria (Aguilera-Sandoval 1989). Además, el frijol se cultiva prácticamente en todo el país y la población de cepas nativas es alta en casi todos los suelos de México, especialmente en las regiones productoras de frijol, donde las poblaciones de rizobios nativos ascienden hasta 10⁵ células por gramo de suelo (Dazzo *et al.* 1990), con predominio de cepas inefectivas (Almaráz-Suárez y Ferrera-Cerrato 1986).

Esta situación provoca en terrenos con altas poblaciones de rizobios nativos que la formación de

¹ Recibido el 24 de mayo de 1993

* Campo Experimental Bajío, INIFAP. Apartado Postal 112, Celaya, Gto., Méx.

** Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados. IPN, Apartado Postal 629, Irapuato, Gto., Méx.

nódulos por cepas introducidas sea baja (Dazzo *et al.* 1990; Hernández-Razo 1987; Maya *et al.* 1989; Thies *et al.* 1992). Thies *et al.* (1991a), en un estudio realizado con ocho leguminosas entre las que estaba el frijol, reportó que para lograr un incremento significativo en el rendimiento, en relación con el cultivo no inoculado, fue necesario que se duplicara la masa nodular, además de lograr más del 66% de la ocupación de nódulos con la cepa introducida. Singleton *et al.* (1992) informó que de 10 experimentos establecidos en frijol a través de la Red Internacional de Ensayos de Inoculación—correspondientes al proyecto NIFTAL—, sólo en cuatro de ellos hubo una respuesta significativa a la inoculación.

Debido a que la inoculación tiene como propósito lograr el predominio en la formación de nódulos por cepa introducida, la cual es considerada altamente efectiva al no conseguir generar estos nódulos en los porcentajes deseados, el uso de inoculantes en esta especie en suelos con alta presencia de cepas nativas es seriamente cuestionado.

Este es el caso de la mayoría de las regiones frijoleras de México; sin embargo, hasta la fecha no se han evaluado, con base en un procedimiento uniforme, los resultados globales de los experimentos de campo dirigidos a definir el éxito de la inoculación con cepas elite.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el éxito global del uso de inoculantes formulados con base en cepas elite como medio para satisfacer la demanda de N del frijol, cultivado en condiciones de riego y temporal en México.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio consistió en analizar globalmente los resultados de 46 experimentos de campo establecidos para evaluar la respuesta a inoculantes preparados con cepas elite, las cuales pasaron por un proceso de autenticación, evaluación y selección en condiciones controladas y cuya localización se indica en la Fig. 1.

Esos ensayos fueron realizados entre 1977 y 1991 y sus resultados fueron obtenidos de revistas científicas, tesis universitarias, informes técnicos de campos experimentales y memorias de congresos,

procurando incluir todos los informes realizados en México sobre el tema. En todos los casos sólo se recabó información de tres tratamientos: a) testigo sin inoculante ni fertilizante nitrogenado (N-), al cual se le aplicaron solamente 40 kg de P_2O_5 /ha; b) tratamiento con inoculante y con adición de fósforo a la misma dosis del tratamiento anterior; c) testigo con adición de nitrógeno (N+) en dosis que variaron de 25 a 120 kg/ha y sin inoculante. A este

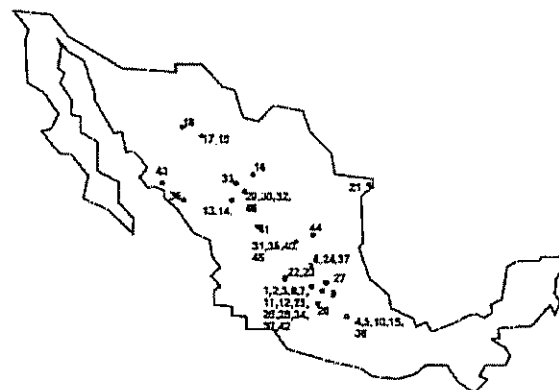


Fig. 1. Localización de los ensayos de inoculantes.

Nota:

Números corresponden a los experimentos del Cuadro 1.

tratamiento, también, se le adicionó fósforo a la misma dosis como en los anteriores. La única fuente de variación fue el abastecimiento de nitrógeno mediante fertilizante o inoculación.

Datos revisados

En cada experimento, se tomaron los datos de localidad sobre siembra, genótipos, cepas, dosis de nitrógeno, condición de humedad (riego o temporal), número de nódulos por planta y rendimiento de grano. Estos dos últimos fueron obtenidos para la mejor cepa o inoculante multicépa evaluado en el experimento. Cuando hubo más de un genótipo evaluado, se obtuvo el promedio de éstos. Con los datos de rendimiento se calculó el rendimiento relativo entre los tratamientos; es decir, se obtuvieron tres datos de rendimiento relativo:

— (Inoc/N-) 100: Indicador general de la respuesta a la inoculación en el sitio experimental.

- (N+/N-) 100: Indicador de la respuesta a la aplicación de N al suelo (índice de fertilidad del suelo).
- (N+/Inoc) 100: Indicador del grado de abastecimiento de nitrógeno a la planta mediante la inoculación.

En el caso del primer indicador, un valor cercano a 100 significa que no hay respuesta a la inoculación, mientras que un valor superior a 100 señala que tuvo resultados favorables al aumentar el rendimiento en relación con el testigo N-.

En el caso del segundo indicador, un valor cercano a 100 se interpreta como ausencia de respuesta a la fertilización, es decir, que, en las condiciones de manejo del experimento, el suelo satisface la demanda de nitrógeno del cultivo, aunque también existe la posibilidad de que las cepas nativas abastezcan al cultivo en forma suficiente.

En el caso del tercer indicador, un valor cercano a 100 se interpreta en general como un buen comportamiento del inoculante y mayor de 100 indica que el inoculante no satisface la demanda de N del cultivo, aunque también hay la posibilidad de que las cepas nativas abastezcan al cultivo en forma suficiente. Un valor mayor de 100 indica un bajo nivel de N disponible en el suelo.

Procedimiento de análisis

Una vez recabada la información, se formaron dos grupos de experimentos: a) el primero, que incluyó las pruebas establecidos en condiciones de riego (21 ensayos); y b) el segundo, las pruebas establecidas en condiciones de temporal, es decir, sujetas a la precipitación pluvial (25 ensayos); también se obtuvieron los datos en forma global de todos los ensayos. En ambos casos se hicieron tres comparaciones: 1) inoculado *versus* N-, 2) N+ *versus* N-, 3) N+ *versus* inoculado. Esta última

comparación se realizó exclusivamente en los experimentos con bajo N disponible en el suelo, es decir, eliminando aquellos en que no hubo respuesta a la aplicación de nitrógeno. Se consideró que si no había respuesta a la aplicación de N al suelo, el N disponible del suelo en dicha localidad satisfacía la demanda de N del cultivo y, por lo tanto, los resultados de dicha prueba no eran válidos para evaluar la efectividad de la inoculación. Esta última comparación permitió establecer objetivamente si el cultivo satisfizo su demanda de N mediante la inoculación, sin desvirtuar los resultados por el alto nivel de N disponible en el suelo.

Se utilizaron dos criterios para establecer las comparaciones entre los tratamientos arriba mencionados: a) criterio estadístico, que consistió en comparar los tratamientos con rigor estadístico al 5% de probabilidad y que corresponde al reportado para cada uno de los ensayos y b) criterio de aumento en rendimiento, que consistió en comparar los tratamientos con base en una diferencia en el rendimiento igual o superior al 10 por ciento. Este segundo criterio es menos rígido que el primero pues no involucra un análisis estadístico y, por lo tanto, es menos exacto.

RESULTADOS

Los resultados de los experimentos sobre inoculantes en frijol se presentan en el Cuadro 1. En el análisis de los 46 ensayos establecidos en campo se incluyeron 30 cepas de *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseoli y 17 genótipos de frijol, en 22 localidades de 10 entidades federativas del país. Del total de informes revisados, el 54% correspondió a siembras de temporal y el restante a siembras de riego.

Nodulación

No obstante que los datos de nodulación no son un buen indicador de la eficiencia de fijación de N₂ (Duque *et al.* 1985), y que en la mayoría de los

experimentos analizados en el presente estudio sólo se incluyeron los datos de una fecha de muestreo, la consistente nodulación del tratamiento testigo (N-) indica una alta presencia de rizobios nativos en todas las localidades, de tal manera que el tratamiento inoculado no mostró niveles de nodulación superior al testigo prácticamente en ninguno de las pruebas.

En relación a la fertilización nitrogenada, ésta abatió significativamente ($P < 0.05$) la nodulación en relación al testigo N- o al tratamiento inoculado en una tercera parte de los ensayos, independientemente de que fueran bajo riego o temporal.

Cuadro 1. Localidad, genótipo de frijol y cepas de *Rhizobium* utilizadas, dosis de N, condición de humedad, nodulación y rendimientos obtenidos durante 15 años de experimentos con inoculantes en frijol.

No de ensayo	Localidad	Genótipo	Cepa	Dosis de N K/H	Condición	Número de nódulos/planta		
						N-	Inoc.	N+
1	Celaya, Gto.	Canario 101	ENCB 2+7	40	temporal	40 a*	44 a	19 b
2	Celaya, Gto.	Canario 101 F M	ITC-102	40	temporal	67 a	71 a	91 a
3	Celaya, Gto.	Bajío 2 genótipos	ITC-102	60	riego	-	-	-
4	L. Sn Juan, Méx.	2 genótipos	ENCB-410	80	temporal	229 a	306 a	90 b
5	Xaltépa, Méx.	Canario 101	ENCB-410	80	riego	145 a	181 a	124 a
6	Celaya, Gto.	Canario 101	CIAT-255	40	riego	47 a	64 a	11 b
7	Celaya, Gto.	Canario 101	ITC-1018	40	temporal	56 a	72 a	16 b
8	Sn Luis Paz, Gto	Canario 101	ITC-1018	40	temporal	66 a	65 a	17b
9	Apasco Alto, Gto	Ojabra 400FM	ITC-1018	40	temporal	-	-	-
10	Chapingo, Méx.	RMC FM	CP-16	120	temporal	50 a	33 a	47 a
11	Celaya, Gto	RMC Can-101	ITCI+2+3+4	60	riego	36 a	21 a	20 a
12	Celaya, Gto	Can-101	ITCN-FM 8	60	riego	-	-	-
13	Durango, Dgo.	-	FM 157	60	temporal	35 a	15 a	4 a
14	Durango, Dgo.	3 genótipos	FM 157	60	temporal	95 a	155 a	160 a
15	Chapingo, Méx.	3 genótipos	-	60	temporal	-	-	-
16	G. Palacios, Dgo	O de Cabra	NM 17	40	riego	1 a	11 a	1 a
17	Delicias, Chih.	3 genótipos	NM-5	40	riego	52 a	52 a	35 a
18	Cuauhtémoc, Chih	3 genótipos	NM-23	40	temporal	-	5	1 a
19	Delicias, Chih	3 genótipos	NM-8	40	riego	76 a	94 a	52 a
20	Acámbaro, Gto	L-307	varias	60	riego	-	-	-
21	Matamoros, Coah	FM RMC	NM-8	50	riego	-	-	-
22	Irapuato, Gto.	FM RMC	Viking 1	60	riego	28 a	30 a	5 b
23	Irapuato, Gto.	4 genótipos	ITC-49	60	temporal	-	-	-
24	Sn. Luis P., Gto.	FM RMC	CNPAF-150	60	temporal	23 a	19 a	8 b
25	Celaya, Gto.	FM RMC	Viking 1	60	riego	155 a	165 a	34 b
26	Celaya, Gto.	FM RMC	ITC-49	60	riego	13 a	14 a	3 b
27	Querétaro, Qro.	B. Zacatecas	ITC-49	60	riego	11 a	4 a	14 a
28	Celaya, Gto.	B. Zacatecas	ITC-49	60	riego	20	28	4
29	Madero, Dgo.	B. Zacatecas	CPMEX-107	25	temporal	-	-	-
30	Madero, Dgo.	3 genótipos	CPMEX-99	25	temporal	-	-	-
31	Pabellón, Ags.	3 genótipos	CPMEX-145, 78	40	temporal	-	-	-
32	Madero, Dgo.	2 genótipos	CIAT-899	70	temporal	37 b	60 a	27 b
33	Allende, Dgo	B. Zacatecas	CIAT-899 CIAT-	70	temporal	51 a	60 a	20 b
34	Celaya, Gto	Azuf. Regional	899	80	riego	47 a	51 a	23 b
35	Pabellón, Ags	Canario 101	CIAT-899	40	temporal	-	-	-
36	Culiacán, Sin	varios	CPMEX-120	60	riego	2	7	0
37	Sn. Luis P. Gto.	varios	ITC-49	40	riego	-	-	-
38	Texcoco, Méx	varios	CPMEX-1	40	temporal	92 a	94 a	69 a
39	Celaya, Gto	varios	Gto 2.1 + 12.1	80	temporal	-	-	-
40	Pabellón, Ags	varios	CPMEX-99	40	riego	-	-	-
41	Calera, Zac.	varios	CPMEX-99	40	temporal	-	-	-
42	Celaya, Gto	3 genótipos	Gto 2.1 + 12.1	80	temporal	-	15	10
43	Gunsavo, Sin.	2 genótipos	multicepa	60	riego	25 a	42 a	35
44	Sol. Gracia, SLP	2 genótipos	multicepa	60	riego	-	-	-
45	Pabellón, Ags	multicepa	multicepa	60	riego	-	-	-
46	Madero, Dgo.	multicepa	multicepa	60	temporal	-	-	-

(Continuación Cuadro 1.)

No. de ensayo	Localidad	Rendimiento		Ton/ha N+	rendimiento relativo (%)		Referencia bibliográfica	
		N-	Inoc.		Inoc/N-	N+/N-		
1	Celaya, Gto	0.57 a	0.52 a	0.71 a	91	124	137	Andrade <i>et al.</i> (1977)
2	Celaya, Gto	1.01 a	0.97 a	1.02 a	96	100	105	Andrade y Maya (1978)
3	Celaya, Gto	0.74 a	0.86 a	1.02 a	116	138	119	Andrade <i>et al.</i> (1979)
4	L. Sn. Juan, Mex	1.10 b	1.10 b	1.60 a	100	145	145	Cuautle <i>et al.</i> (1981)
5	Xaltepa, Mex	2.05 a	1.95 a	2.09 a	95	102	107	Cuautle <i>et al.</i> (1981)
6	Celaya, Gto.	0.80 a	0.79 a	0.62 a	99	78	78	Montes <i>et al.</i> (1982)
7	Celaya, Gto.	0.83 a	0.89 a	0.95 a	107	115	107	Montes <i>et al.</i> (1982)
8	Sn. Luis P., Gto.	0.83 a	0.87 a	0.84 a	105	101	97	Montes <i>et al.</i> (1982)
9	Apaseo Alto	0.41 b	0.17 a	0.22 a	121	157	129	Montes <i>et al.</i> (1982)
10	Chapingo, Méx.	0.81 a	0.81 a	0.93 a	100	115	115	Mathieu (1982)
11	Celaya, Gto	3.12 a	2.99 a	3.20 a	96	103	107	Montes <i>et al.</i> (1982)
12	Celaya, Gto	2.00 a	2.43 a	2.15 a	122	108	88	Montes <i>et al.</i> (1983)
13	Durango, Dgo.	0.92 a	1.01 a	0.92 a	110	100	91	Quintero <i>et al.</i> (1983)
14	Durango, Dgo.	1.04 a	1.44 a	1.20 a	138	115	83	Quintero <i>et al.</i> (1983)
15	Chapingo, Méx.	1.51 b	1.62 b	1.94 a	128	120	120	Chonay <i>et al.</i> (1983)
16	G. Palacios, Dgo.	1.34 a	1.53 a	1.65 a	114	123	108	Lee y Lindelman (1983)
17	Delicias, Chih.	1.23 b	1.94 a	1.79 a	158	149	92	Lee y Lindelman (1983)
18	Cuauhtémoc, Chih.	—	1.60 a	0.96 b	-	-	60	Lee y Lindelman (1983)
19	Delicias, Chih.	1.55 a	1.83 a	1.64 a	118	106	90	Lee y Lindelman (1983)
20	Acámbaro, Gto.	3.03 a	3.20 a	2.96 a	106	98	93	Montes <i>et al.</i> (1986)
21	Matamoros, Coah.	0.50 b	1.05 a	0.56 b	210	112	53	Vargas (1987)
22	Irapuato, Gto.	2.25 a	2.39 a	2.48 a	106	110	104	Montes <i>et al.</i> (1987)
23	Irapuato, Gto.	0.99 c	1.62 a	1.25 b	164	126	77	Montes <i>et al.</i> (1987)
24	Sn. Luis P., Gto.	0.66 a	0.86 a	0.63 a	130	95	73	Montes <i>et al.</i> (1987)
25	Celaya, Gto.	4.26 a	4.38 a	4.44 a	103	104	101	Maya <i>et al.</i> (1989)
26	Celaya, Gto	1.61 a	1.87 a	1.63 a	116	101	87	Maya <i>et al.</i> (1989)
27	Querétaro, Qro	1.03 a	1.48 a	1.29 a	143	125	87	Maya <i>et al.</i> (1989)
28	Celaya, Gto.	1.61 a	1.81 a	1.98 a	112	122	109	Maya <i>et al.</i> (1989)
29	Madero, Dgo.	1.20 c	1.56 b	1.93 a	130	161	124	Almaraz <i>et al.</i> (1989)
30	Madero, Dgo.	1.34 b	1.64 ab	1.71 a	122	128	104	Almaraz <i>et al.</i> (1989)
31	Pabellón, Ags	0.86 a	1.01 a	0.91 a	117	106	90	Muñoz <i>et al.</i> (1989)
32	Madero, Dgo.	0.28 b	0.26 b	0.56 a	93	175	188	Muñoz <i>et al.</i> (1989)
33	Allende, Dgo.	0.66 b	0.65 b	1.08 a	98	164	166	Muñoz <i>et al.</i> (1989)
34	Celaya, Gto.	2.56 a	2.44 a	2.53 a	95	99	104	Muñoz <i>et al.</i> (1989)
35	Pabellón, Ags	0.70 a	0.59 a	0.90 a	84	129	153	Muñoz <i>et al.</i> (1989)
36	Culiacán, Sin.	1.40 b	1.52 b	1.95 a	109	139	128	Armenta y Martínez (1989)
37	Sn. Luis P., Gto.	0.69 a	0.73 a	0.81 a	106	117	111	Soria y Castellanos (1989)
38	Texcoco, Méx.	0.56 a	0.63 a	0.68 a	112	121	108	Guaderrama y Laguna (1989)
39	Celaya, Gto.	2.40 a	2.43 a	2.83 a	101	118	116	Castellanos <i>et al.</i> (1989)
40	Pabellón, Ags	1.16 b	1.29 ab	1.39 a	111	120	108	Padilla <i>et al.</i> (1990)
41	Calera, Zac.	0.82 a	0.84 a	0.89 a	102	109	106	Padilla <i>et al.</i> (1990)
43	Guanave, Sin.	1.12 b	1.21 b	2.00 a	108	179	165	Armenta <i>et al.</i> (1990)
44	Sol. Gracia, SLP	1.03 b	1.83 ab	1.96 a	112	120	107	Huerta <i>et al.</i> (1990)
45	Pabellón, Ags.	2.08 b	2.06 b	2.61 a	99	125	127	Acosta <i>et al.</i> (1991)
46	Madero, Dgo.	1.24 b	1.23 b	1.76 a	99	142	143	Acosta <i>et al.</i> (1991)

* Valores con la misma letra entre hileras son estadísticamente iguales.

Rendimiento de grano

Efecto de la inoculación. En el Cuadro 2 se presenta el porcentaje de experimentos en que el tratamiento inoculado superó al testigo negativo de

nitrógeno (N-) de acuerdo a la condición de humedad, bajo dos criterios de comparación. El comportamiento de la respuesta a la inoculación fue muy similar en las dos condiciones de humedad.

Cuadro 2. Porcentaje de experimentos en los cuales el tratamiento inoculado superó al testigo N- de acuerdo a la condición de humedad y bajo dos criterios de comparación.

Condición de humedad y rendimiento	Criterio estadístico (P < 0.05)	Criterio de aumento del 10% en rendimiento
	ensayos (%)	
Riego	9.5	48
Temporal	12.0	48
Global	10.8	48

Los resultados de la comparación con base en el criterio estadístico indican que solamente en uno de cada diez experimentos el tratamiento inoculado tuvo un rendimiento significativamente ($P < 0.05$) superior al testigo. Al utilizar el segundo criterio de comparación del 10% de aumento en rendimiento, considerado mucho menos rígido, el tratamiento inoculado superó al testigo solamente en el 48% de los casos. Aún así, en la mayor parte de ellos, tanto en riego como en temporal, la inoculación no fue exitosa. Estos resultados son congruentes con los datos de Singleton *et al.* (1992) quien reportó respuesta significativa ($P < 0.05$) a la inoculación solamente en el 30% de los experimentos evaluados.

Existen dos posibilidades para explicar esta falta de respuesta a la inoculación: a) en las condiciones agroecológicas evaluadas la inoculación *per se* no representa ninguna ventaja; o b) el suelo tiene un alto nivel de N disponible, por lo que la planta no requiere hacer uso de la simbiosis (Thies *et al.* 1991b). Con el fin de discriminar entre estas dos posibilidades, se clasificaron las pruebas en función de la respuesta a la aplicación de N al suelo.

Efecto de la aplicación de N al suelo. En el Cuadro 3 se presentan los datos de respuesta a la aplicación de N al suelo. La comparación estadística entre los tratamientos N+ y N- indicó que en condiciones de temporal en el 44% de los

experimentos, hubo un bajo nivel de N disponible en el suelo, lo que propició una respuesta positiva a la aplicación de nitrógeno. En cambio, en condiciones de riego, esta cifra sólo llegó al 28%, que indica que en condiciones de temporal los suelos tienen contenidos más bajos de N disponible que bajo riego.

Cuadro 3. Rendimiento de grano a la aplicación de nitrógeno al suelo, de acuerdo a la condición de humedad y dos criterios de comparación (%).

Condición de humedad	Criterio estadístico (P < 0.05)	Criterio de aumento del 10% de rendimiento
	ensayos (%)	
Riego	28	57
Temporal	44	76
Global	37	67

Posiblemente estos resultados se deban al escaso uso de fertilizantes y a la mínima incorporación de residuos de cultivo al suelo, como resultado del escaso uso de fertilizante nitrogenado y de residuo de cultivo por los campesinos. Con base en el criterio de comparación de aumento en el rendimiento, se observa un incremento en el porcentaje de pruebas con respuesta, probablemente como resultado del bajo rigor de la comparación. Los datos globales denotan que solamente en dos tercios de los experimentos, el nivel de N disponible en el suelo fue lo suficientemente bajo como para que ocurriera respuesta a la aplicación de fertilizante nitrogenado y, por ende, para evaluar en forma objetiva la respuesta a la inoculación.

Abastecimiento de N mediante la inoculación

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de la comparación del tratamiento inoculado *versus* N+, exclusivamente cuando hubo respuesta a la aplicación del N al suelo; estos datos indican el grado de éxito

de la inoculación para satisfacer la demanda de nitrógeno. Se considera que en la medida en que el tratamiento inoculado produce un rendimiento de grano similar al tratamiento N+, significa que la inoculación logra satisfacer la demanda de nitrógeno del cultivo.

Cuadro 4. Porcentaje de experimentos en que la inoculación satisfizo la demanda de N del cultivo* de acuerdo a la condición de humedad y bajo dos criterios de comparación.

Condición de humedad	Porcentaje de experimentos	
	Criterio estadístico (P < 0.05)	Criterio de aumento del 10% de rendimiento
Riego	50	58
Temporal	36	37
Global	41	45

* Se consideró que la demanda de N fue satisfecha cuando el tratamiento inoculado presentó al menos el mismo rendimiento que el tratamiento N+.

De acuerdo con el criterio estadístico, sólo en el 36% de los experimentos en temporal, la inoculación satisfizo la demanda de nitrógeno del cultivo. Se obtuvo un porcentaje similar con el segundo criterio de comparación. Por otro lado, en las pruebas bajo riego, la inoculación fue ligeramente más exitosa en satisfacer la demanda de N de la planta, lo cual puede estar relacionado con un ambiente más favorable para que la simbiosis se lleve a cabo sin restricciones de humedad, tal como lo han indicado Saito *et al.* (1984); Smith y Hume (1985); Smith *et al.* (1988) y Castellanos *et al.* (1955).

Los resultados globales indican que solamente en cuatro de cada 10 experimentos, la inoculación tiene éxito en proporcionar la demanda de N requerida por la planta; en el resto, sería necesario aplicar fertilizante nitrogenado para satisfacer cabalmente la demanda de N del cultivo. Es

importante resaltar que la estimación de abastecimiento de N a través de la inoculación, se realizó a una dosis baja de N; sin embargo, se ha observado que, en algunos casos, dosis altas de N superan al tratamiento de inoculación.

Esto significa que en varios experimentos del presente estudio la demanda de N del cultivo se subestimó al utilizar dosis bajas de nitrógeno y, posiblemente, hizo suponer en forma errónea que la inoculación satisfizo plenamente la demanda de este nutrimento.

Los resultados arriba presentados explican porque el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP) recomienda fertilizar con nitrógeno el frijol en áreas de riego como de temporal en México (Andrade *et al.* 1990), pues para el agricultor es insuficiente una tecnología que tiene éxito sólo en el 40% de los casos.

DISCUSIÓN

La primera pregunta que surge de estos resultados es: ¿cuál es la causa del escaso éxito en México en lograr incrementar la fijación de N₂ en frijol por el microsím-bionte? Existen por lo menos cuatro respuestas que coadyuvarían a explicar este comportamiento: a) Los bajos porcentajes de nódulos formados con la(s) cepa(s) introducida(s) a través de la inoculación, recientemente documentada como una de las principales causas de la falta de respuesta a la inoculación (Thies *et al.* 1992); b) utilización de genótipos de frijol con pobre capacidad de fijación de N₂ (Bliss 1993); c) alta incidencia de enfermedades radicales que limitan el desarrollo de la raíz para que ocurra una nodulación normal (Abawi 1991); y d) ocurrencia de sequía, que afecta el potencial de la simbiosis en áreas de temporal (Castellanos *et al.* 1995).

Reducida ocupación de nódulos por cepa introducida

La alta presencia de rizobios nativos en la zona frijolera de México (Dazo *et al.* 1990; González y López 1989), con gran diversidad (Aguilar 1990) y con predominio de cepas inefectivas (Almaraz-Suárez y Ferrera-Cerrato 1986) ha provocado que la ocupación de nódulos por cepas introducidas sea baja

(Dazzo *et al.* 1990; Hernández-Razo 1987; Vargas 1987). Estas circunstancias son una seria limitante para el uso de inoculantes con cepas "elite".

Algunos investigadores han propuesto la selección de cepas de alta competitividad para leguminosas de grano como frijol y soja (Benítez y Ferrera-Cerrato 1990; Vega *et al.* 1990); sin embargo, al introducir al campo estas cepas "elite", de excelente comportamiento en condiciones controladas, no reproducen su alta competitividad y muestran un comportamiento mediocre (Acosta-Gallegos y Adams 1991; Ge *et al.* 1986; Li *et al.* 1986).

Estos resultados se deberían a que el inoculante se concentra en una parte muy reducida del suelo en comparación con las cepas nativas (Wadisirisuk *et al.* 1989) y al importante papel que desempeñan los nódulos de las raíces laterales en la fijación de N_2 en etapas más avanzadas de desarrollo del cultivo (Hardanson *et al.* 1989; Wolyn *et al.* 1989). Al respecto, Cuautle *et al.* (1981) mejoró el comportamiento de la inoculación al reducir la competencia de cepas nativas mediante la fumigación del suelo.

Pobre comportamiento simbiótico de los genótipos de frijol

No obstante los resultados satisfactorios reportados sobre selección y mejoramiento genético hacia una mayor capacidad de fijación de N_2 (McPherson 1983; Rosas y Bliss 1986; St Clair y Bliss 1991), y el comportamiento conocido de algunos genótipos de frijol en relación a la capacidad de fijación de N_2 (Ferrera-Cerrato *et al.* 1984; Peña-Cabriales 1988), hasta la fecha, no se han desarrollado en México, en forma extensiva, genótipos de frijol que muestren específicamente alta capacidad de fijación de N_2 y que hayan sido aceptados ampliamente por los agricultores, con excepción del cultivar Puebla 152, genótipo desarrollado por el INIFAP en México y utilizado como progenitor para mejorar la capacidad simbiótica de variedades comerciales de frijol. Posiblemente muchos de los experimentos evaluados

en el presente estudio se realizaron con genótipos de pobre comportamiento simbiótico.

Enfermedades radiculares

El éxito de la nodulación con cepas nativas o introducidas depende, en gran medida, del adecuado desarrollo radicular. En la zona del altiplano mexicano, se ha observado que muchas fallas en la nodulación son propiciadas por la alta presencia de enfermedades radiculares. Al respecto Abawi (1991) reportó que el 100% y 60% de los sitios muestreados en Durango y Zacatecas, respectivamente, en donde se localiza la principal zona productora de frijol en México, estuvieron afectados por *Fusarium* y *Rhizoctonia* en porcentajes que variaron del 10% al 60% de plantas dañadas.

En esas condiciones, no es suficiente tener genótipos con alta capacidad de fijación de N_2 sino que además deben ser tolerantes a las enfermedades radiculares que permitan el desarrollo de la raíz y del tejido nodular para poder lograr una adecuada simbiosis, o bien utilizar fungicidas que reduzcan el daño de las enfermedades radiculares y que no afecten el rizobio (Graham 1980).

Los resultados de esta revisión indican que, por el momento, la vía del microsimbionte ofrece muy pocas posibilidades para incrementar la fijación de N_2 en el frijol en México, y que la vía más prometedora es la del genótipo a través de la búsqueda, selección y mejoramiento genético hacia el carácter de alta eficiencia de fijación de N_2 , explotando las ventajas de una nodulación temprana (Barradas *et al.* 1989; Kipe-Nolt 1989), una tasa extendida (Hungria y Franco 1988) y un elevado potencial de fijación de N_2 (Kipe-Nolt y Giller 1985), además de un aceptable nivel de tolerancia a las enfermedades radiculares predominantes en la región —objetivo de la investigación— complementado con otros atributos agronómicos, de sanidad y calidad del grano.

LITERATURA CITADA

- ABAWI, G. S. 1991. Diagnosis and importance of root diseases of beans in the production areas of Durango, Zacatecas and Aguascalientes: Addendum to the México Trip Report Proyecto INIFAP-MSU. CRSP.

- ACOSTA-GALLEGOS, J. A.; ADAMS, M. W. 1991. Plant traits and yield stability of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar under drought stress. *Journal of Agricultural Science (Inglaterra)* 117:213-219.
- AGUILAR, M. C. 1990. Caracterización de las cepas nativas de *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseoli del estado de Zacatecas. Tesis de Maestría. CINVESTAV, Unidad Irapuato. 85 p.
- AGUILERA-SANDOVAL, N. E. 1989. Supervivencia de cepas nativas de *Rhizobium phaseoli* del estado de Zacatecas a diferentes temperaturas del suelo. Tesis Lic. Irapuato, Gto. México, Escuela de Agronomía y Zootecnia. Universidad de Guanajuato. 65 p.
- ALMARAZ-SUÁREZ, J. J.; FERRERA-CERRATO, R. 1986. Evaluación y selección de cepas de *Rhizobium phaseoli* eficientes en fijación de nitrógeno aislados de Zacatecas. Durango y Aguascalientes: Reporte anual del proyecto de tolerancia a sequía en frijol. Méx., Michigan State University-Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias.
- ALMARAZ, J. J.; FERRERA-CERRATO, R.; ACOSTA GALLEGOS, J. A. 1989. Evaluación de cepas de *Rhizobium phaseoli* bajo condiciones de temporal en Durango. In Informe de Investigación sobre Frijol 1988. Méx., Proyecto Michigan State University-Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. p. 176-192.
- ANDRADE, E.; MAYA, J.; RODRÍGUEZ, H. 1977. Estudio de cepas nativas de *Rhizobium*. In Informe del frijol de temporal, 1977. Méx., Celaya, Gto. INIA, Campo Agrícola Experimental Bajío.
- ANDRADE, E.; MAYA, J. 1978. Estudio de cepas nativas de *Rhizobium phaseoli*. In Informe de Frijol de Temporal 1978. Méx., Celaya, Gto., INIFAP, Campo Agrícola Experimental Bajío, Centro de Investigaciones Agrícolas del Bajío. p. 53-64.
- ANDRADE, E.; MONTES, R.; MAYA, J. 1979. Estudio de cepas nativas de *Rhizobium phaseoli*. In Informe de Frijol de Riego 1979. Méx., INIFAP, Campo Agrícola Experimental Bajío, Centro de investigaciones Agrícolas del Bajío. p. 37-39.
- ANDRADE, E.; DELGADILLO, F.; ARÉVALO, A.; SORIA, J.; RODRÍGUEZ, H.; DÍAZ CASTRO, G. 1990. Guía para cultivar frijol de riego y temporal en Guanajuato. INIFAP-CIFAP-GTO. Folleto para Productores No. 2.
- ARMENTA, A.; MARTÍNEZ, F. 1989. Evaluación de cepas de *Rhizobium phaseoli* en frijol (*Phaseolus vulgaris*) en Sinaloa. In Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo (22.). Memorias. p. 137.
- ARMENTA, A.; MARTÍNEZ, F.; VILLARREAL, M. 1990. Comparación de métodos de inoculación con *Rhizobium phaseoli* en frijol. In Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo (22.). Memoria. p. 144.
- BARRADAS, C. A.; BODDEY, R.; HUNGRÍA, M. A. 1989. Selección de cultivares de feijão e estirpes de *Rhizobium* para nodulação e senescencia tardía dos nódulos. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo* 13:169-179.
- BENITEZ, J. M.; FERRERA-CERRATO, R. 1990. Inoculación de frijol con *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseoli de alta capacidad competitiva y tolerancia a sequía bajo dos condiciones de humedad. In Resultados de Investigación sobre Frijol 1989. Méx., Proyecto Colaborativo Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias-Michigan State University. p. 111-121.
- BLISS, F. A. 1993. Breeding common beans for improved biological nitrogen fixation. *Plant and Soil* 152:71-99.
- CASTELLANOS, J. Z.; PEÑA-CABRIALES, J. J.; ACOSTA GALLEGOS, J. A. 1989. Efecto de la precocidad a floración y madurez sobre la extracción y removilización de N en frijol común. In Congreso de la Sociedad Nacional de la Fijación Biológica de Nitrógeno (2., Méx.). Resumen. p. 49-50.
- CASTELLANOS, J. Z.; PEÑA CABRIALES, J. J.; ACOSTA GALLEGOS, J. A.; GÁMEZ, J. C. 1990. Capacidad de fijación de nitrógeno de 12 variedades de frijol. In Resultados de Investigación sobre frijol 1989. Méx., Proyecto Colaborativo Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias-Michigan State University. p. 123-128.
- CASTELLANOS, J. Z.; PEÑA CABRIALES, J. J.; ACOSTA GALLEGOS, J. A. 1995. ¹⁵N-Determined dinitrogen fixation capacity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars under water stress. *Journal of Agricultural Science*.
- CUAUTLE, E.; NUÑEZ-ESCOBAR, R.; VALDEZ, M. 1981. Efecto de la fertilización, fumigación del suelo e inoculación con *Rhizobium*, sobre la nodulación, contenido de nitrógeno y rendimiento de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Chapingo, Méx. *Agrociencia* 43:19-35.
- CHONAY, J. J.; VOLKE, V.; FERRERA-CERRATO, R.; MARTÍNEZ, A. 1983. Efecto de la fertilización nitrogenada foliar sobre la compensación de la fijación biológica de nitrógeno por *Rhizobium phaseoli* en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agrociencia* 51:37-56.
- DAZZO, F.; MAYA, J.; VALDÉZ, M.; CASTELLANOS, J. Z. 1990. Effects of *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseoli inoculants over bean yield, root growth and early nodule development. In North America Symbiotic N₂ Fixation Conference (12.). Ames, Iowa.
- DUQUE, F. F.; NEVES, M. C. P.; FRANCO, A. A.; VICTORIA, R. L.; BODDEY, R. M. 1985. The response of field grown *Phaseolus vulgaris* L. to *Rhizobium* inoculation and

- the quantification of N₂ fixation using ¹⁵N Plant and Soil 88:333-343.
- FERRERA-CERRATO, R.; LÓPEZ, A., E.; ETCHEVERS, J. D.; NUÑEZ, R. 1984 Utilización de ¹⁵N en la evaluación de fijación simbiótica de N₂ en el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). In Reunión Latinoamericana sobre *Rhizobium* (12, Campinas, Bra.). p. 5.
- GE, C.; FAN, H.; XM, L.; WM, Y.; CHEN, Y. 1986 s t. Soybean Science 5:327-333
- GONZÁLEZ, G.; LÓPEZ, M. 1989 Densidad de población de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* en la zona del Edo de Veracruz. In Congreso Nacional de Fijación Biológica de Nitrógeno (2) Resumen. Guadalajara. Jal
- GRAHAM, P.H. 1980 Survival of *Rhizobium* in contact with chemical seed protectants. Agronomy Journal 72:625-627.
- GUADERRAMA, M.E.; LAGUNA, C.A. 1989. Efecto de la fertilización nitrogenada e inoculación con *Rhizobium phaseoli* en 8 variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) In Congreso Nacional de la Fijación Biológica del Nitrógeno (2) Resúmenes p. 59-60
- HARDARSON, G.; GOLBS, M.; DANSO, S.K.A. 1989. s t. Soil Biology and Biochemistry 21:783-787.
- HERNÁNDEZ-RAZO, A.R. 1987 Nodulación de frijol por *Rhizobium phaseoli* resistente a captan bajo diferentes formas de inoculación. Tesis Lic. Universidad de Guanajuato, Escuela de Agronomía y Zootecnia. 55 p.
- HUERTA, J.; FLORES, M.; TISCAREÑO, J.A.; IRACHETA, M.A.; NUÑEZ, J.J. 1990 Comparación de la inoculación y fertilización en tres cv de frijol. In Congreso de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo (23). Memoria p. 145
- HUNGRÍA, M.; FRANCO, A.A. 1988 Nodule senescence in *Phaseolus vulgaris* L. Tropical Agriculture (Tri) 65:341-345
- KAPLAN, L.; KAPLAN, L.N. 1988 *Phaseolus* in archeology. In Genetic Resources of Beans P. Gepts (Ed). Boston, Kluwer Academic p. 125-142
- KIPE-NOLT, J.A.; GILLER, K.E. 1985 An evaluation of tropical *Phaseolus vulgaris* genotypes from a breeding program for improved nitrogen fixation. In Nitrogen Fixation Research Progress. H.J. Evans, ? Bottomley, W.E. Newton (Eds). Martinus Nijhoff p. 37
- LEE, V.; LINDEMAN, W. 1983. Fijación de nitrógeno en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en la región Sur de Nuevo México y la Norte-Centro de México. TERRA 2:63-70.
- LI, F.; CHEN, H.; WANG, F. 1986. s t. In Congress ISSS. Transactions v 2, p. 602-603
- MATHIEU, M.L. 1982. Estudios rizosféricos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculado con mutantes de *Rhizobium phaseoli* resistentes a estreptomycin. Tesis Lic. Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. 76 p.
- MAYA, J.; ANDRADE, E.; MONTES, R. 1989. Ensayos de inoculación en campo en la región del Bajío: Estudio sobre fijación de N₂ en frijol. Proyecto Colaborativo Instituto Tecnológico de Celaya-Michigan State University. Méx., Instituto Tecnológico de Celaya, Departamento de Bioquímica
- MC PHERSON, J.R. 1983. Genetic and breeding studies of dinitrogen fixation in common bean, *Phaseolus vulgaris* L. Ph D Thesis. Madison, University of Wisconsin.
- MONTES, R.; ANDRADE, E.; MAYA, J. 1982. Inoculación de frijol con cepas nativas de *Rhizobium phaseoli* en condiciones de riego y temporal. In Informe de Investigación sobre Frijol de Riego y Temporal 1980. Méx., Celaya, Gto. Campo Experimental Bajío-Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias
- MONTES, R.; ANDRADE, E.; MAYA, J. 1983. Inoculación de frijol con cepas nativas de *Rhizobium phaseoli* en condiciones de riego y temporal. In Informe de Investigación sobre Frijol de Riego y Temporal. Celaya, Gto. Campo Agrícola Experimental Bajío, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias p. 45-49
- MONTES, R.; ANDRADE, E.; MAYA, J. 1986. Selección de cepas de *Rhizobium phaseoli* para variedades mejoradas de frijol en la región Bajío. In Informe de Proyectos de Investigación Agrícola en Frijol de Riego y Temporal 1986 y 1987. INIFAP, Campo Experimental Bajío p. 21-28
- MONTES, R.; ANDRADE, E.; MAYA, J. 1987. Selección e inoculación de cepas de *Rhizobium phaseoli* a variedades mejoradas de frijol en la región Bajío. In Informe de Proyectos de Investigación Agrícola en Frijol de Riego 1987 y de temporal 1986. Méx., Celaya, Gto., INIFAP, Campo Experimental Bajío p. 62-70.
- MUÑOZ, J.J.; ARRIETA, M.P.; CASTELLANOS, J.Z.; PADILLA, J.J.; GRAHAM, P.H. 1989. Efecto de la competencia de cepas nativas sobre la nodulación y rendimiento de frijol bajo temporal. In Informe de Investigación sobre Frijol 1988. Méx., Proyecto Colaborativo Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias y Forestales-Michigan State University. p. 210-223
- PADILLA, S.; PÉREZ-TRUJILLO, H.; ACOSTA GALLEGOS, J.A.; FERRERA-CERRATO, R. 1990. Interacción simbiótica entre cepas de *Rhizobium* y cultivares de frijol (*Phaseolus vulgaris*) bajo condiciones de temporal: Resultados de investigación sobre frijol 1989. Méx., Proyecto Colaborativo Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias-Michigan State University p. 95-104

- PEÑA-CABRIALES, J.J. 1988 Nitrogen fixation of 20 cv of *Phaseolus vulgaris* in México. In Status Report of the Coordinated Research Program to Improve Yield and Nitrogen Fixation of Grain Legumes in Latin America with Aim of Increasing Food Production and Saving N Fertilizer. G. Hardarson (Ed.) Seibersdorf. Viena. Joint/IAEA. IAEA CRA No Di 40 03 p. 48-54
- QUINTERO, M.J.; GONZÁLEZ, S.M.; CALZADA, C.; CASTILLO, M.A.; PEÑA, M. 1983. Efecto de la inoculación de frijol en zonas de temporal en Durango. Turrialba (C.R.) 33:303-309
- ROSAS, J.C.; BLISS, F.A. 1986. Host Plant traits associated with estimates of nodulation and nitrogen fixation in common bean. Horticultural Science 21:287-289.
- SAITO, S.M.T.; NAZARETH, M.; MONTANEHIRO, S.; VICTORIA, R.C.; REICHARDT, K. 1984. The effects of N fertilizer and soil moisture in the nodulation and growth of *Phaseolus vulgaris*. Journal of Agricultural Science (Inglaterra) 103:87-93
- SINGLETON, P.W.; BOHLOOL, B.B.; NAKAO, P.L. 1992. Legume response to rhizobial inoculation in the Tropics. In Myths and Realities in Tropical Agriculture. R. Lal, P.A. Sánchez (Eds.) Madison, Wisconsin, SSSA-ASA. p. 135-155.
- SMITH, D.L.; HUME, D.J. 1985. Effect of irrigation and fertilization on N₂ (C₂H₂) fixation and yield of white bean and soybean. Canadian Journal of Plant Science 65:307-316
- SMITH, D.L.; DIJACK, M.; HUMME, D.J. 1988. The effect of water deficit on N₂ fixation by white bean and soybean. Canadian Journal of Plant Science 68:957-967
- SORIA, J.; CASTELLANOS, J.Z. 1989. Comportamiento de cuatro cepas de *Rhizobium* en dos genótipos de frijol bajo condiciones de captación de agua *in situ*. In Congreso de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo (22) Memoria. p. 139
- ST. CLAIR, D.A.; BLISS, F.A. 1991. Intrapopulation recombination for ¹⁵N determined dinitrogen fixation ability in common bean. Plant Breeding 106:215-225
- THIES, J.E.; BOHLOOL, B.B.; SINGLETON, P.W. 1992. Environmental effects on competition for nodule occupancy between introduced and indigenous rhizobia and among introduced strains. Canadian Journal of Microbiology 38:493-500
- THIES, J.E.; SINGLETON, P.W.; BOHLOOL, B.B. 1991a. Influence of the size of indigenous rhizobia population on establishment and symbiotic performance of introduced rhizobia on field grown legumes. Applied and Environmental Microbiology 57:19-28.
- THIES, J.E.; SINGLETON, P.W.; BOHLOOL, B.B. 1991b. Modeling symbiotic performance of introduced Rhizobia in the field by use of indexes of indigenous population size and nitrogen status of the soil. Applied and Environmental Microbiology 57:29-37
- VARGAS, A.L. 1987. Evaluación de cepas de *Rhizobium* en tres variedades de frijol en la Comarca Lagunera. In Congreso de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo (20) Resumen. Zacatecas. Zac. p. 160
- VARGAS-CANO, M.S. 1987. Efecto de diferentes formas de inoculación de *Rhizobium phaseoli* sobre la nodulación de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis Lic. Universidad de Guanajuato, Méx., Escuela de Agronomía y Zootecnia. 70 p.
- VEGA, M.C.; FERRERA-CERRATO, R.; ACOSTA-GALLEGOS, J.A. 1990. Efectividad y capacidad competitiva de cepas de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* inoculadas en frijol: Resultados de Investigación sobre frijol 1989. Méx., Proyecto Colaborativo Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias-Michigan State University. p. 79-85.
- WADISIRISUK, P.; DANSO, S.K.; HARDARSON, G.; BOWEN, G.D. 1989. Applied and Environmental Microbiology 55:1711-1716
- WOLYN, D.J.; ATTEWELL, J.; LUDDEN, P.W.; BLISS, F.A. 1989. Indirect measures of N₂ fixation in common bean *Phaseolus vulgaris* L. under field conditions: The role of the lateral root nodules. Plant and Soil 113:181-187