

TURRIALBA

REVISTA INTERAMERICANA DE CIENCIAS AGRICOLAS

VOLUMEN 42

TRIMESTRE ABRIL-JUNIO 1992

NUMERO 2

CODEN: TURRAB 42(2):127-286

Efecto de la diciandiamida y urea en el crecimiento y nodulación de la soja. O. Acuña, C. Ramírez	127
Identificação de metabólitos secundários em folhas de cafeeiro por GC/MS. V. Peres, JS de Oliveira, R S. Romeiro	133
Determination of a pre-vernalization phase in carrot (<i>Daucus carota</i> L.) cv. Flakkee. G. Galmarini, R. Borgo, R. Tizio	140
Efectos de diferentes distancias entre hileras y sistemas de podas sobre crecimiento y producción de <i>Capsicum frutescens</i> L. B. Añez, C. Figueredo	143
Efeito da inoculação na nodulação e índice de colheita em cultivares de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.). JCS Lopes, FF Duque, GG Pessanha	151
Influencia de la temperatura en la conservación <i>in vitro</i> de germoplasma de <i>Musa</i> C. Núñez P., J. Sandoval, L.E. Müller	160
Effect of extracts from <i>Bauhinia monandra</i> (Kurz) seeds on cassava. Z. Russom	165
Características de tres suelos tropicales sobre caliza bajo selva en Chiapas, México. A. Campos, D. Dubroeuq	169
Interacción hormiga-polinizador en cacao. W. Goltia, C. Bosque, K. Jaffe	178
<i>Austroepatarium inulaefolium</i> H.B.K. extracts in deterring feeding of the rice weevil on wheat. M.E. Alonso	187
Redistribución de las precipitaciones en un bosque siempreverde del sur de Chile. A.M. Huber, C.E. Oyarzún	192
Estudos histológicos de tratamentos pelo calor nas expressões de suscetibilidade e resistência na interacção <i>Coffea arabica</i> - <i>Hemileia vastatrix</i> M.C. Silva, L. Rijo, C.J. Rodrigues Jr., M.I. Vasconcelos	200
Efecto de la hipoxia sobre el crecimiento y adquisición de nutrimentos en <i>Lolium multiflorum</i> I.D. Kleiman, D.H. Cogliatti, G.E. Santa María	210
Host-pathogen interaction in dual cultures of <i>Helianthus annuus</i> L. - <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) De Bary. S.M. Piubello, O.H. Caso, M.A. del Pero Martínez	220
Efecto del pastoreo sobre la tasa de acumulación neta en pasturas de <i>Lotus corniculatus</i> S.G. Assuero, C.J. Escuder, F. Andrade, O. Fernández, B.H. Fernández	224
Variabilidade do teor de cafeína em sementes de café. P. Mazzafera, A. Carvalho, L.C. Fazuoli, H.P. Medina Filho	231
Feeding value of two varieties of <i>Festuca arundinacea</i> (Schreb.) under grazing conditions. C.J. Escuder, F.J. Santini, S. Chifflet de Verde, S. Assuero, A. García	238
Influencia del tamaño de explante en la propagación <i>in vitro</i> de cuatro cultivares de <i>Musa</i> . J.A. Sandoval, L.E. Müller	243
Caracterización de variedades de arroz ante virus de hoja blanca. F. Cuevas Pérez, L.E. Berrio, G. Lema, M. Rubiano	249
Dieta artificial para la crianza de <i>Podisus connexivus</i> (Hemiptera: Pentatomidae) J.L.D. Saavedra, J.C. Zanuncio, T.M.C. Della Lucia, E.F. Vilela	258
Caracterización agroindustrial de plantas de probeta de <i>Saccharum</i> spp. G. Velázquez, G. Carrillo	262
Arquitetura da planta de sorgo tratado com herbicidas. R.A. Rodella	269
Effects of micronutrient fertilization on Jonathan apples in Guatemala W.T. Williams, V.M. de Del Aguila, S. Cifuentes, R. Pérez	276
Avaliação do sistema de consorcio de substituição de girassol e soja com e sem dessecação química. P.R. Ferreira da Silva, C.M. Mundstock, J.A. Costa, A. Lima Nepomuceno	283
Reseñas de libros	132, 139, 168, 191, 209



INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA

San José, Costa Rica

CR ISSN 0041 - 4360

Efecto de la Diciandiamida y Urea en el Crecimiento y Nodulación de la Soja¹

Oscar Acuña*, Carlos Ramírez*

ABSTRACT

The effect of the nitrification inhibitor diciandiamide (DCD) was studied under greenhouse conditions in two soils of Guanacaste, Costa Rica: a Typic Ustropept (Liberia) and an Entic Chromustert (Guardia). The treatments consisted of application of urea in quantities of 0, 12, 24, and 35 mg · kg⁻¹ of N with 0 and 5 mg · kg⁻¹ of DCD and each also received 100 mg of P₂O₅ · kg⁻¹ of N. There were 16 treatments in 2 x 4 x 2 factorial, which corresponded respectively to the DCD dose, the levels of N, and the quantity of soils. A randomized block design was used, with four repetitions. At 7, 14 and 45 days, the concentrations of NH₄⁺ and NO₃⁻ were determined using Bremner's method. The type of sampling was destructive. It was seen that N fixation was negatively affected in the Guardia soil, due to the accumulation of NO₃⁻, deriving from available N and the urea that was not inhibited by DCD.

INTRODUCCION

El cultivo de la soja depende entre el 25% y el 75% de la asimilación del nitrógeno fijado, de acuerdo con las concentraciones del N disponible (1). Si bien, la soja responde adecuadamente a la fertilización nitrogenada (1), las plantas crecidas exclusivamente con nitrato (NO₃⁻) produjeron menos cosecha que con poca cantidad del mismo a pesar de estar bien noduladas (7), destacando el posible efecto positivo del N aportado por la fijación en la producción de este cultivo.

Se ha considerado aumentar la producción de grano de soja, complementando la fijación de N con la fertilización mencionada. En general, a mayores cantidades de N fijo (amonio y nitrato) en los fertilizantes,

COMPENDIO

Se estudió el efecto de la diciandiamida (DCD), inhibidor de la nitrificación, en dos suelos de Guanacaste, Costa Rica: Typic Ustropept (Liberia) y Entic Chromustert (Guardia) en invernadero. Se hicieron 16 tratamientos con aplicaciones de urea en dosis de 0, 12, 24 y 35 mg · kg⁻¹ de N; DCD, a razón de 0 y 5 mg · kg⁻¹ de N y, además, se proporcionaron a cada suelo 100 mg de P₂O₅ · kg⁻¹. Los tratamientos mostraban un arreglo factorial 2 x 4 x 2, correspondientes a la dosis del inhibidor, a los niveles de N y a la cantidad de suelos, respectivamente. Se utilizó el diseño estadístico de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. A los 7, 14 y 45 días se determinó la concentración de NH₄⁺ y NO₃⁻, según la metodología de Bremner. El muestreo fue de tipo destructivo. Las observaciones permitieron determinar que la fijación de N fue afectada negativamente en el suelo Guardia, debido a la acumulación de NO₃⁻, proveniente del N disponible y de la urea no inhibida por DCD.

se reduce su fijación, pues ambas formas inhiben desde el establecimiento de la simbiosis hasta el funcionamiento de los nódulos (6). Se señala al NO₃⁻ como más inhibidor que el (NH₄⁺) (10, 13, 20). Además, en cuanto a su sensibilidad al N disponible, se mencionan pequeñas diferencias entre aislamientos de *Bradyrhizobium* y mayores, entre cultivares (6).

El N aplicado como fertilizante predomina sobre su fijación como fuente del mismo para las plantas, y como complemento para el N disponible y no a la inversa. Pero la aplicación de pequeñas dosis de N (nitrógeno de arranque) que alivien el estrés de dicho elemento, por el agotamiento de las reservas cotiledonales de las plántulas y el atraso en el inicio de la fijación, puede beneficiar, eventualmente, este proceso, al desarrollarse mejor el follaje y, consecuentemente, al aumentar la capacidad de suministrar fotosintatos a los nódulos (16).

Sin embargo, se debe tener cuidado al adicionar el fertilizante nitrogenado en relación con la forma (evitar el NO₃⁻), concentración y época de aplicación. Por ejemplo, un exceso de N puede inhibir la nodulación y su fijación de nitrógeno. Muy poco N en condiciones que favorezcan la nitrificación, podría no ser absorbido por las plantas al lixivarse el NO₃⁻. En el suelo, el efecto degradante sobre la nodulación y la fijación

1 Recibido para su publicación el 7 de diciembre de 1990. Este trabajo fue financiado por el Programa de Ciencia y Tecnología AID-CONICIT-UCR. Se agradece la colaboración del Laboratorio de Suelos del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, C R

* Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica.

posiblemente esté mediado por el NO_3^- , que es más móvil, pues el NH_4^+ es absorbido por coloides inorgánicos y orgánicos de carga negativa (15, 18). De este modo, los sitios de infección en la raíz pueden sufrir el efecto directo del NO_3^- que se mueve en el agua del suelo, mientras que el NH_4^+ influencia sólo en los puntos de contacto, raíz-suelo.

Aumentar el tiempo de residencia del NH_4^+ en el suelo mediante el uso de inhibidores de la nitrificación, puede minimizar el efecto negativo del N sobre la fijación y, al mismo tiempo, asegurar su beneficio; pues el NH_4^+ no se lixivia y puede ser absorbido por las raíces en contacto directo con los puntos de intercambio. El NO_3^- producido en cantidades limitadas por el efecto del inhibidor, es absorbido paulatinamente por el cultivo. Así, al inicio de la fijación de N en las plántulas y cuando se consolida su nodulación, las concentraciones de N en el suelo serán depletadas a un nivel no inhibitorio (16).

MATERIALES Y METODOS

El experimento se realizó en el invernadero del Laboratorio de Suelos, Programa de Mejoramiento de Cultivos Tropicales del CATIE, en Turrialba, Costa Rica.

Las semillas de soja (*G. max*) var. Júpiter fueron tratadas con un inoculante multicepa (*Bradyrhizobium japonicum*), suministrados por el Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica. Se sembraron en recipientes plásticos de 500 ml de capacidad (cuatro por recipiente, raleados a dos a la semana). El riego se efectuó por capilaridad a través de pajillas de filtro de celulosa desde un recipiente plástico de mayor volumen, sobre el cual se colocó un soporte de madera perforada. Este método, además de suministrar agua a las plantas de soja, mantiene la humedad del suelo, permite la nitrificación e impide la lixiviación de nitratos que podría asociarse al riego intermitente.

Los tratamientos se aplicaron a las muestras de los suelos en solución para asegurar una distribución óptima. A los dos suelos, cuyas características químicas se anotan en el Cuadro 1, uno del campo experimental adyacente al Centro Universitario de Liberia (Typic Ustropept) y el otro, de la serie Guardia (Entic Chromustert), cercano al poblado del mismo nombre, ambos de la provincia de Guanacaste, se les aplicó urea en cantidades de 0, 12, 24 y 35 mg N kg⁻¹ y el inhibidor de la nitrificación diciandiamida (DCD) en 0 y 5 mg N kg⁻¹. A todos los tratamientos se les proporcionó una fertilización base de 100 mg P₂O₅. kg M⁻¹, el mismo día de la siembra. A cada recipiente se le agregaron 400 g de la muestra de suelo con base seca.

Cuadro 1. Ubicación y caracterización química de los suelos estudiados (Liberia, Guanacaste, Costa Rica).

Caracterización	Suelos	
	Centro Regional Universitario	Guardia
M.O. (%)	2.5	4.0
pH (H ₂ O)	5.9	5.9
p (mg kg ⁻¹)	39.0	9.5
Ca (cmol (p+) kg ⁻¹)	4.88	8.94
Mg (cmol (p+) kg ⁻¹)	1.84	4.69
K (cmol (p+) kg ⁻¹)	0.51	1.54
Al (cmol (p+) kg ⁻¹)	0.18	0.18
Zn (mg kg ⁻¹)	1.0	3.0
Mn (mg kg ⁻¹)	24.0	52.0
Clasificación	Andic Ustic Humitropept	Entic Chromustert

El diseño estadístico empleado fue el de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Los tratamientos mostraban el arreglo factorial 2 x 4 x 2, con un total de 16 tratamientos.

Las concentraciones de NH_4^+ y NO_3^- se determinaron en los suelos a los 7, 14 y 45 días de aplicados los tratamientos, según la metodología de Bremner (2). En cada muestreo se utilizó la totalidad del volumen de suelo en los recipientes para cada tratamiento y repetición, es decir, fue destructivo. Por el volumen pequeño de suelo, el peso seco de las plántulas y la nodulación se determinaron 22 días después de la siembra. El suelo se dejó incubando sin las raíces, hasta el día 45, para el muestreo final.

RESULTADOS Y DISCUSION

Para evaluar el efecto del DCD se escogieron dos suelos contrastantes en los contenidos de arcilla, materia orgánica y capacidad de suministro de N: características determinantes en la actividad del inhibidor (3, 11). Además, la interacción del fertilizante y el nitrógeno nativo disponible en forma de amonio y nitrato puede afectar la simbiosis.

El suelo Guardia tiene un mayor contenido de materia orgánica, así como de arcillas del tipo 2:1. En cuanto al PH se refiere, no favorece las posibles pérdidas que pueden ocurrir en suelos ligeros y calcáreos, al aplicar el inhibidor en la superficie (19).

Se midió el efecto del DCD, inhibidor de la oxidasa del citocromo (9) en *Nitrosomonas europaea* (bacterias

autótrofas que llevan a cabo el paso de NH_4^+ a NO_3^- tomando en cuenta la acumulación del NH_4^+ y NO_3^- en el suelo. Para evaluar el resultado sobre la simbiosis se cuantificó el peso seco de las plántulas a los 22 días de edad, así como el contenido de N y el peso seco de los nódulos.

En el suelo, la urea es hidrolizada rápidamente a NH_4^+ por la ureasa, enzima común en los organismos del suelo. Así, la adición de urea es casi equivalente a la agregación de NH_4^+ . Por otro lado, el DCD no inhibe la hidrólisis de la urea (19).

En el Cuadro 2 se presentan los datos sobre las concentraciones de NO_3^- y el de NH_4^+ para las diferentes fechas de muestreo. A los siete días, las concentraciones de NO_3^- en el suelo Guardia (6.0 mg l^{-1})

fueron mayores que en el Liberia por un factor de 2.5. Estas concentraciones indican que el potencial de nitrificación de ambos suelos fue suficiente.

Una mayor concentración de NH_4^+ en el suelo Guardia (Cuadro 2), sugiere su mayor capacidad para proporcionar N, debido, posiblemente, a su mayor contenido de materia orgánica.

La adición de DCD en todos los niveles de urea, redujo las concentraciones del NO_3^- en el suelo Liberia, no así en el Guardia. Si estas diferencias fueran el resultado de la acción del inhibidor, se esperaría un aumento concomitante del NH_4^+ en los niveles altos de fertilización con urea al aplicarse el inhibidor. Precisamente eso fue lo que se encontró en el suelo Liberia, pero no en el Guardia, donde el NO_3^- sí aumentó

Cuadro 2. Efecto de la diciandiamida y niveles de urea sobre el nitrato y amonio extraído de dos suelos* (Liberia, Guanacaste, Costa Rica).

Tratamiento mg kg ⁻¹ N	Días después de la siembra														
	7				14				45						
	Suelo		Suelo		Suelo		Suelo		Suelo		Suelo				
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2			
NO ₃ ⁻		NH ₄ ⁺		NO ₃ ⁻		NH ₄ ⁺		NO ₃ ⁻		NH ₄ ⁺		NO ₃ ⁻		NH ₄ ⁺	
(mg/kg)															
Testigo	2.6 _{bc}	30.1 _c	6.0 _{bc}	41.5 _{ab}	3.2 _b	34.6 _b	4.6 _b	37.0 _a	1.5 _a	8.8 _a	2.8 _b	10.5 _{bc}			
5 DCD	1.7 _{bc}	32.5 _{bc}	5.5 _{cd}	45.5 _a	2.1 _b	34.6 _b	4.2 _b	33.3 _a	1.9 _{ab}	6.8 _a	1.8 _b	16.0 _{ab}			
12 urea	2.8 _{abc}	32.8 _{bc}	3.6 _d	33.2 _c	2.7 _b	33.5 _b	6.1 _{ab}	26.9 _a	1.2 _{ab}	5.7 _a	4.3 _b	17.0 _{ab}			
5 DCD+ 12 urea	1.4 _c	32.4 _{bc}	3.4 _d	46.8 _a	3.0 _b	32.4 _b	3.0 _b	38.9 _a	1.2 _b	2.7 _b	7.5 _a	16.4 _{ab}			
22 urea	4.6 _a	32.2 _{bc}	6.6 _{bc}	41.6 _{ab}	2.5 _b	28.9 _b	6.9 _{ab}	38.7 _a	2.5	8.7 _a	3.2 _b	18.3 _a			
22 urea 5 DCD	2.4 _{bc}	38.4 _a	8.1 _{ab}	40.4 _{ab}	2.3 _b	42.9 _a	5.1 _b	36.3 _a	3.5 _a	7.7 _a	2.2 _b	13.9 _{bc}			
35 urea	3.1 _{abc}	31.7 _c	9.0 _a	38.1 _{bc}	5.1 _a	30.6 _b	7.5 _a	32.2 _a	3.4 _a	7.7 _a	3.5 _b	9.4 _c			
35 urea 5 DCD	3.6 _{ab}	36.5 _{ab}	8.2 _{ab}	37.6 _{bc}	2.7 _b	33.3 _b	5.1 _b	33.9 _a	1.6 _b	7.1 _a	2.9 _b	17.5 _a			

* Suelo Liberia Typic Ustropept, Suelo 2 Guardia Entic Chromustert.

** Valores con la misma letra en una misma columna similares al 0.05 según la Prueba de Duncan

respecto del testigo. Además, el NH_4^+ fue menor en el suelo Guardia, lo cual muestra su nitrificación. Esto sugiere que el inhibidor sí actuó en el suelo Liberia, quizá por su mayor contenido de materia orgánica y arcillas —factores que inactivan el compuesto por absorción (11). Las plántulas de soja estaban muy poco desarrolladas a los siete días como para influir en las concentraciones de NH_4^+ y NO_3^- , lo que evidencia un posible sumidero de esos radicales.

Después de 14 días de siembra, no se notó un aumento en el contenido de NO_3^- en relación con el primer muestreo, de esa manera se evidencia la absorción por las plantas. Sin embargo se mantuvo una mayor concentración en el suelo Guardia respecto del Liberia. También, las concentraciones fueron, en general, más altas conforme se aumentó la dosis de N en presencia o no del inhibidor. Estas observaciones corroboran que aparentemente el DCD, en las dosis empleadas, no actuó en el suelo Guardia. En esta fecha, las diferencias en el contenido de NH_4^+ entre los suelos, no fueron tan palpables como en el primer muestreo. A este punto era esperable una disminución de la actividad del DCD debido a su degradación microbiana.

A los 45 días, no se observó un patrón definido distinto en los tratamientos, con o sin DCD en los suelos. Llamó la atención el mayor contenido de NO_3^- y de NH_4^+ en el suelo Guardia, hecho que corresponde con su alto contenido de materia orgánica. Además hubo una disminución drástica en la cantidad de NO_3^- en el suelo Guardia y de NH_4^+ en ambos suelos, compatible con la absorción de las plántulas y con los mecanismos de pérdida de N.

En el Cuadro 3 se presentan los datos de nodulación, peso seco de plantas y absorción de N. En el suelo Liberia, el peso seco de nódulos no varió significativamente a ninguna de las dosis de N de urea con o sin inhibidor. Tampoco hubo diferencias en el peso seco de las plantas y en el N total, probablemente por la cosecha temprana de las plántulas debido a limitaciones en el tamaño del pote y, por eso, la fijación no fue reflejo de la nodulación.

En el suelo Guardia, por el contrario, el peso de los nódulos fue menor en los niveles altos de N (35 mg l^{-1}), así como el peso seco de las plantas y la absorción de N. Estas observaciones indican que la fijación de N fue afectada negativamente en este suelo, por el N disponible más el de la urea, unidos a la falta de eficacia del DCD, lo que permitió una mayor acumulación de NO_3^- . El NO_3^- en solución nutritiva o en cultivo de arena, es mejor inhibidor de la fijación de N que el amonio (13). No obstante, en el suelo, el comportamiento de ambas formas de N son drásticamente diferentes. El NH_4^+ es retenido mediante el intercambio catiónico por los coloides cargados negativamente (15, 18, 21). De esa manera, el NH_4^+ no migrará con los movimientos de masa del agua del suelo, desencadenados por la corriente evapotranspiradora que crea la planta, lo que si ocurre con el NO_3^- . En términos prácticos, la diferencia de las dos formas de N se acentuaría en el suelo pues el NO_3^- estaría más en contacto con el sistema radical que el NH_4^+ , lo que tiene implicaciones muy importantes por su efecto potencial sobre la fijación de N.

Cuadro 3. Efecto del inhibidor diciandiamida y de varios niveles de urea sobre el peso seco de nódulos, peso seco y nitrógeno total de la parte aérea de plantas de soja (*Glycine max* L. Merr.) sembrada en dos suelos de la provincia de Guanacaste, Costa Rica.

Tratamientos (N mg/kg)	Suelo 1*			Suelo 2*		
	Peso de nódulos (mg/planta)	Peso seco (g/planta)	N total (mg N)	Peso de nódulos (mg/planta)	Peso seco (g/planta)	N total (mg N)
Testigo	29a**	0.39bc	17bc	16b	0.41	22a
5 DCD	29a	0.37bc	18abc	22a	0.35bc	19a
12 urea	32a	0.37bc	20ab	13bc	0.36ab	20a
5 DCD+12 urea	31a	0.36bc	17bc	14b	0.37ab	17a
24 urea	31a	0.45a	21ab	08d	0.31cd	17a
5 DCD+24 urea	30a	0.40b	17bc	15b	0.36ab	18a
35 urea	30a	0.35bc	19ab	12bc	0.20d	11a
5 DCD+35 urea	23a	0.33a	16bc	09cd	0.27cd	13a

* Suelo 1: Centro Universitario de Liberia: Typic Ustrocept.
Suelo 2: Guardia, Liberia: Entic Chromustert.

** Valores con las mismas letras en una misma columna son estadísticamente iguales según la Prueba de Duncan.

Se acepta que el NO_3^- tiene consecuencias negativas en todas las fases de la fijación, desde la infección hasta la formación de nódulos y su funcionamiento (5). En las primeras fases del establecimiento de la simbiosis, el NO_3^- tiene un resultado directo sobre la infección de los pelos radicales, la excreción de lectinas y el número de sitios de anclaje de la lectina en el hospedero, que es más inhibitorio que el NH_4^+ . Harper y Cooper (7) señalan que este aspecto se da en el campo, donde la aplicación de NH_4^+ NO_3^- en el suelo cercano a la principal zona de nodulación de la raíz, tuvo un efecto inhibitorio mayor que con una aplicación más profunda en el suelo.

En las leguminosas de grano existe un desfase entre el establecimiento de la simbiosis y el agotamiento de las reservas cotiledóneas de N (17). El estrés resultante restringe el crecimiento de la plántula. La aplicación de pequeñas dosis de N en ese momento pueden mejorar el crecimiento sin inhibir la simbiosis (14, 16, 17). Más aún, el mayor desarrollo del tejido fotosintético favorecería, en etapas tardías del cultivo, una mayor fijación de nitrógeno mediante el concomitante aumento de los fotosintatos disponibles en los nódulos. Así hay un retorno positivo de N para la planta, por medio de la fijación, como resultado del N de arranque. No obstante, en condiciones de campo, el manejo de las concentraciones de N con esta finalidad sería difícil, pues, por un lado, las condiciones que favorecen la nitrificación (NH_4^+ de fertilizantes) podrían facilitar la lixiviación (12), y prevenir el beneficio para las plantas. Por el contrario, dosis altas de N de arranque podrían inhibir la nodulación, el desarrollo y la producción del cultivo de soja.

En el suelo, el efecto detrimental sobre la nodulación y la fijación, posiblemente esté mediado por el NO_3^- y no por el NH_4^+ . Mantener el NH_4^+ por más tiempo en el suelo, mediante el uso de inhibidores de la nitrificación, permitiría minimizar el efecto negativo del N sobre la fijación, al mismo tiempo que aseguraría el resultado benéfico apuntado arriba.

El hecho de que las concentraciones relativamente altas de NH_4^+ no hayan inhibido la nodulación en el suelo Liberia, y aún en el Guardia, indican que en el suelo esta forma no es tan activa como el NO_3^- , pues las concentraciones mucho más bajas son capaces de hacerlo en hidroponía, donde el contacto del NH_4^+ con las raíces es directo (10).

En este experimento se evidencia la efectividad del DCD para evitar la inhibición de la nodulación en los niveles más altos de urea, por lo menos en un suelo. Lo que justifica la necesidad de realizar experimentos *in situ*, para evaluar la bondad de esta estrategia en el manejo de la fertilización nitrogenada de leguminosas de grano.

LITERATURA CITADA

1. ALLOS, H.R.; BARTHOLOMEW, W.V. 1959 Replacement of symbiotic fixation by available nitrogen. *Soil Science* 87:61-66.
2. BREMNER, J.M. 1965. Inorganic forms of Nitrogen. In *Methods of soil analysis*. C.A. Black (Ed.) Madison, ASA. v.2, p. 1179-1237.
3. BUNDY, L.G.; BREMNER, J.M. 1973. Effect of nitrification inhibitors in soils. *Soil Science Society of America. Proceedings* 37:396-398.
4. DEIBERT, E.J.; BEIRERIEGO, M.; OLSON, R.A. 1979 Utilization of N^{15} fertilizer by nodulating and non-nodulating soybean isolines. *Agronomy Journal* 71:713-723.
5. GIBSON, A.H.; JORDAN, D.C. 1983. Ecophysiology of nitrogen-fixing systems. In *Encyclopedia of plant physiology*. O.L. Lange, P.S. Nobel, H. Ziegler (Eds.). Berlin, Springer Verlag. New Series v 12c. p. 302-390.
6. GIBSON, A.H.; HARPER, J.E. 1985. Nitrate effect on nodulation of soybeans by *Bradyrhizobium japonicum*. *Crop Science* 25:497-501.
7. HARPER, J.E.; COOPER, R.I. 1971. Nodulation response of soybeans (*Glycine max* L. Merr.) to application rate and placement of combined nitrogen. *Crop Science* 11:438-440.
8. HARPER, J.E. 1974. Soil and symbiotic nitrogen requirements for optimum soybean production. *Crop Science* 14:255-260.
9. HAUCK, R.D. 1980. Mode of action of nitrification inhibitors. In *Nitrification inhibitors, potentials and limitations*. J.J. Meisinger, G.W. Randall, M.L. Vitosh (Eds.) Madison, ASA. ASA Special Publication no. 38. p. 19-32.
10. IMSANDE, J. 1986. Inhibition of nodule development in soybeans by nitrate or reduced nitrogen. *Journal of Experimental Botany* 37:348-355.
11. KEENEY, D.R. 1980. Factors affecting the persistence and bioactivity of nitrification inhibitors. In *Nitrification inhibitors, potentials and limitations*. J.J. Meisinger, G.W. Randall, M.L. Vitosh (Eds.). Madison, ASA. ASA Special Publication no. 38. p. 33-46.
12. KURITZ, L.I. 1980. Potential for nitrogen loss. In *Nitrification inhibitors, potentials and limitations*. J.J. Meisinger, G.W. Randall, M.L. Vitosh (Eds.). Madison, ASA. ASA Special Publication no. 38. p. 1-17.
13. LATIMORE, M.; GIDDENS, J.; ASHLEY, D.A. 1977. Effect of ammonium and nitrate nitrogen upon photosynthate supply and nitrogen fixation by soybeans. *Crop Science* 17:399-404.
14. MUNNS, D.N. 1977. Mineral nutrition and the legume symbiosis. In *A treatise on nitrogen fixation. IV. Agronomy and ecology*. R.W.F. Hardy, A.H. Gibson (Eds.). New York, Wiley. p. 353-391.

15. NOMMICK, H.; VAHRAS, K. 1982. Retention and fixation of ammonium and ammonia in soils. In Nitrogen in agricultural soils. F.J. Stevenson (Ed.) Madison, ASA. Agronomy Series no. 22. p. 123-171.
16. PATE, P.S.; DART, P.J. 1961. Nodulation studies in legumes. IV. The influence of inoculum strain and time of application of ammonium nitrate on symbiotic response. Plant and Soil 15:329-346.
17. PATE, J.S. 1976. Functional biology of dinitrogen fixation by legumes. In A treatise on dinitrogen fixation. II Biology. R.W. F. Hardy, W.S. Silver (Eds.) New York, Wiley. p. 473-517.
18. POWLSON, D.S. 1988. Measuring and minimizing losses of fertilizer nitrogen in arable agriculture. In Nitrogen efficiency in agricultural soils. D.S. Jenkinson, K.A. Smith (Eds.). London, Elsevier. p. 231-241.
19. SAHRAWAT, K.L. 1989. Effects of nitrification inhibitors on nitrogen transformations other than nitrification in soils. Advances in Agronomy 42:279-309.
20. STREETER, J.G. 1985. Nitrate inhibition of legume nodule growth and activity. I. Longterm studies with a continuous supply of nitrate. Plant Physiology 77:321-324.
21. YOUNG, J.L.; ALDA, R.W. 1982. Inorganic forms of nitrogen in agricultural soils. In Nitrogen in agricultural soils. F.J. Stevenson (Ed.) Madison, ASA. Agronomy Series no. 22. p. 43-66.

RESEÑA DE LIBROS

SOIL ACIDITY (ACIDEZ DE SUELOS). 1991.
Ulrich, B., M.E. Sumner (Eds.). Berlin,
Alemania, Springer. 224 p.

Este volumen presenta un excelente análisis de los procesos de acidificación y alcalinización de suelos. Examina con detalle los procesos de combinación de elementos motores con los diferentes materiales formadores de suelos y su efecto sobre el desarrollo de la acidificación.

El novedoso aspecto de la acidificación de suelos de los ecosistemas es el tema del capítulo más largo, que abarca más de la quinta parte del libro.

En un breve capítulo, se examina el efecto de la acidez y la alcalinidad, así como su interacción y formación de ácidos y bases en los suelos.

Los dos capítulos subsiguientes presentan información actualizada sobre química de suelos de los óxidos de Al, P y Mn, y con énfasis especial se describe el comportamiento de los minerales de Al.

Siguen dos capítulos que analizan las relaciones entre suelo y planta. El primero se refiere a la toxicidad del Al y el segundo al efecto de la acidez sobre las asociaciones de plantas. El último capítulo estudia el traspaso de la acidez del suelo a aguas superficiales -proceso sobre el cual existe poca información.

Se enfatiza en el transporte de la acidez por la acción de ácidos inorgánicos, provenientes, en gran parte, de la contaminación industrial. También se incluye un breve análisis del papel de los ácidos orgánicos.

Los capítulos tienen breves bibliografías, excepto el tercero que presenta una con más de cien referencias. La orientación del volumen muestra un enfoque básico y hacia problemas en regiones templadas. Sin embargo, la información básica es útil como una referencia, específicamente en relación con la acidificación de ecosistemas, un tópico importante, pero sobre el cual no hay mucha información.

ELEMER BORNEMISZA S.
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Identificação de Metabólitos Secundários em Folhas de Cafeeiro por GC/MS¹

V. Peres*, J. S. de Oliveira*, R. S. Romeiro**

ABSTRACT

The main objective of this work was the study of secondary metabolites in coffee tree leaves and the relationship between them and the natural and differentiated resistance against phytopathogens, using the GC/MS system. The extract of young leaves showed the presence of twenty-eight active compounds against the fungi *Thielaviopsis paradoxa*. Five of these compounds are similar to flavonoids as shown by mass spectra analysis. In extracts from old leaves, twenty-one different compounds were detected; two of them have mass spectra fragmentation patterns similar to flavonoid compounds. The comparative analysis between the total ion currents in both extracts showed that only the old leaves have two intense peaks, which are not present in the young leaf extracts. The mass spectra of these two peaks have features of aldehydes, esters and terpenes. A comparative study with spectra in the literature showed that the peak with a retention time at 37.21 min should be a terpenoid limonene epoxide or a hydrocarbon octadecatriene, and that at 37.51 min it was a hydrocarbon octadecadiene or an aldehyde (E)-2-undecenal. Studies are being conducted to show which parts of these compounds have activity against phytopathogens in both young and old leaves.

RESUMO

Procurou-se identificar metabólitos secundários em folhas de cafeeiro, utilizando-se do sistema de acoplamento GC/MS. Encontraram-se nos extratos de folhas novas 28 compostos ativos contra o fungo *Thielaviopsis paradoxa*, dos quais cinco mostraram-se semelhantes a compostos flavonóides, em decorrência do padrão de fragmentação apresentado. Em extratos de folhas velhas foram detectados 21 compostos, dos quais dois apresentaram padrão de fragmentação de flavonóides. A análise comparativa dos TIC dos extratos permitiu a conclusão de que, em folhas velhas, existem dois picos de grande intensidade que não encontram correspondentes em folhas novas. A análise espectrométrica desses dois picos permitiu deduzir uma semelhança com aldeídos, ésteres, terpenos e compostos terpenóides. A comparação deles com espectros existentes na literatura permitiu concluir que o pico de 37.21 min tem probabilidade de ser o terpenóide epóxido de limoneno ou o hidrocarboneto octadecatrieno. Já o pico 37.51 min, com o mesmo procedimento comparativo, mostrou-se como o hidrocarboneto octadecadieno ou o (E)-2-undecenal. Estão sendo promovidos estudos para demonstrar quais desses compostos possuem atividade nas folhas contra fitopatógenos.

INTRODUÇÃO

Pouco se sabe a respeito das substâncias presentes em folhas de cafeeiro. Os trabalhos existentes restringem-se a citar compostos fenólicos, isolados por Cromatografia de Camada Fina (TLC), usando apenas reveladores químicos ou, então, luz ultravioleta. Isolaram-se assim 41 compostos, dos quais 32 se mostraram comuns a folhas jovens e adultas do cafeeiro (1). No entanto, essas análises relacionaram-se basicamente com uma possível associação entre compostos fenólicos e a resistência da planta a fitopatógenos.

Na análise da cutina de folhas jovens e adultas do cafeeiro, foram encontrados, como componentes predominantes, ácidos dihidroxidecanóicos em várias estruturas isômeras (6). No entanto, não foram detectadas diferenças qualitativas na composição das duas idades de folhas.

Postula-se que compostos terpenícos e terpenóides são comuns a todos os órgãos de plantas, especialmente em seus óleos essenciais e "flavors" (5). Discute-se também a função do mircenol como precursor na formação desses compostos (4), e, diante dessas evidências, é provável que também em folhas de cafeeiro estejam presentes tais substâncias.

O presente trabalho objetivou a identificação dos compostos orgânicos presentes nos extratos metanólicos de folhas novas e velhas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.), usando dados cromatográficos e espectrométricos.

1 Recebido para publicação em 3 de outubro de 1990

* Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa, 36570, Viçosa, Minas Gerais, Bra

** Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, 36570, Viçosa, Minas Gerais, Bra

MATERIAIS E METODOS

Análises por GC/MS

As análises dos extratos metanólicos de folhas novas e velhas do cafeeiro, foram feitas em cromatógrafo de fase gasosa, acoplado a um espectrômetro de massa (GC/MS), quadrupolar Hewlett-Packard, modelo 5996A, equipado com um sistema de processamento de dados RTE-VI VM e um minicomputador Hewlett-Packard 1000 E. A fragmentação dos espectros de massa foi obtida por impacto de elétrons (IE), a 70 eV.

Usaram-se colunas capilares, A e B, nas seguintes condições operacionais:

Coluna A: BP-20, espessura do filme 0.25 μ , "bonded phase" tipo WCOT (*Wall Coated Open Tubular*) de 25 m x 0.32 mm (d.i.), de sílica fundida. Gás de arraste He, 1 ml . min⁻¹ "splitter", na razão de 1:30. Temperaturas do injetor, fonte iônica, analisador e linha de transferência de 280°C. Coluna: 170°C, isotérmica por um minuto e então programada na razão de 4°C . min⁻¹ até 210°C, permanecendo isotérmica por 10 minutos. As injeções foram feitas com seringas cromatográficas marca Hamilton Co. (USA), de 10 μ l. O volume injetado foi padronizado em 1 μ l.

Coluna B: BP-1, espessura do filme 0.5 μ , "bonded phase" tipo WCOT, de 25 m x 0.33 mm (d.i.), de sílica fundida. Gás de arraste e "splitter", nas mesmas condições anteriores. Temperatura do injetor: 300°C, fonte iônica, analisador e linha de transferência de 280°C. Coluna: 150°C, isotérmica por um minuto e então programada na razão de 2°C . min⁻¹ até 300°C, permanecendo isotérmica por um minuto. Volumes injetados de 1 μ l, com seringas cromatográficas Hamilton Co. (USA) de 10 μ l.

Preparação dos extratos de folhas de cafeeiro para análise por GC/MS

O extrato metanólico (80%), de folhas novas e velhas, foi inicialmente cromatografado em placa de TLC, usando-se o sistema de solventes n-hexano-éter etílico-metanol (40:40:20 v/v). Após a corrida cromatográfica, as placas foram reveladas em câmara de luz ultravioleta e as manchas, extraídas com o mesmo sistema de solventes. Evaporaram-se solventes em corrente de nitrogênio seco, e o resíduo foi res-suspendido em metanol bidestilado, para posterior análise em Coluna A. Parte desse resíduo obtido foi derivatizado com 100 μ l de BSA (Sigma), para posterior análise em Coluna B.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Promoveu-se a análise espectrométrica de 28 padrões escolhidos, e, somente 10 deles eluíram para o espectrômetro de massa quando se utilizou a coluna A. Como esta coluna é adequada para análises cromatográficas de substâncias polares e os compostos fenólicos analisados eram dotados de polaridade relativamente grande, pôde-se deduzir que outros fatores, além da polaridade, estavam influenciando nos resultados.

A derivatização com BSA é uma técnica que permite transformar as substâncias não-voláteis e as termicamente instáveis em éteres trimetilsilanizados, os quais apresentam polaridade e pontos de ebulição mais baixos que os respectivos compostos originais (3). Com a derivatização, os padrões puderam ser analisados no sistema de acoplamento GC/MS, inclusive compostos flavonóides, usando-se a coluna B.

Quando foi promovida a análise espectrométrica dos extratos metanólicos de folhas novas e velhas, no sistema de acoplamento GC/MS em Coluna A, não se obteve um cromatograma total de íons (TIC) possível de ser analisado. Isto sugere uma provável incompatibilidade entre os compostos presentes nos extratos, com a fase polar da coluna, ou uma não-otimização do sistema com os extratos. Esse resultado também está em desacordo com os dados obtidos anteriormente (1), que prevêem a existência de uma série de compostos polares, entre eles fenóis e flavonóides, nos extratos de folhas de cafeeiro.

Uma outra dedução que pode ser tirada do comportamento da amostra perante a Coluna A é que os componentes do extrato são dotados de elevados pontos de ebulição. Desse modo, são difíceis de serem volatilizados na temperatura alcançada pelo injetor do instrumento.

Quando se utilizou a coluna B, os extratos de folhas novas e velhas do cafeeiro foram derivatizados, obtendo-se assim os respectivos cromatogramas totais de íons (Figuras 1 e 2).

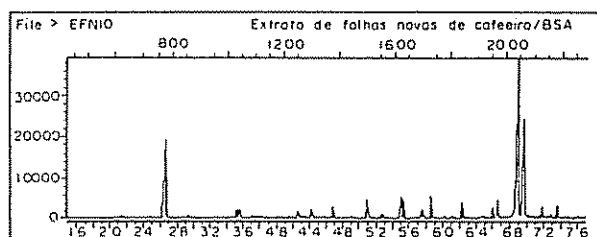


Fig. 1. Cromatograma total de íons do extrato derivatizado de folhas novas de cafeeiro

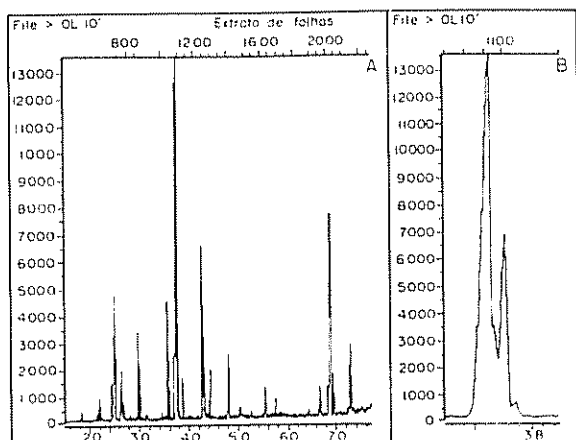


Fig. 2. a) Cromatograma total de íons do extrato derivatizado de folhas velhas de café e b) "zoom" do pico a 37.21 min.

Os espectros de massa, obtidos dos compostos presentes nos TIC dos extratos de folhas novas e velhas, são apresentados nos Quadros 1 e 2, com os picos mais intensos em ordem decrescente de abundância relativa.

Os espectros de massa, obtidos dos compostos presentes nos TIC dos extratos de folhas novas e velhas, são apresentados nos Quadros 1 e 2, com os picos mais intensos em ordem decrescente de abundância relativa.

A análise do Quadro 1 permite inferir que apenas 12 componentes do extrato de folhas novas de café podem corresponder a compostos hidroxilados (álcoois ou fenóis), uma vez que em somente 12 espectros aparece o pico m/z 73 característico do fragmento $[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]^+(8)$. Já o extrato de folhas velhas mostra a presença de 10 compostos com o fragmento m/z 73.

A comparação dos Quadros 1 e 2 com os espectros de padrões sugere a existência de flavonóides e,

Quadro 1. Espectros de massa do extrato derivatizado de folhas novas de café.

Composto	Tempo de retenção	Padrão de fragmentação					
		m/z (Abundância relativa) (%)					
01	18.15	32 (100)	73 (33)	43 (20)	40 (20)	207 (17)	57 (16)
02	21.40	32 (100)	41 (32)	57 (31)	43 (30)	97 (21)	55 (15)
03	24.55	32 (100)	67 (29)	55 (25)	40 (16)	42 (16)	82 (14)
04	24.81	32 (100)	43 (44)	41 (39)	57 (30)	71 (18)	55 (16)
05	26.42	149 (100)	57 (72)	41 (67)	56 (21)	76 (20)	39 (19)
06	29.34	58 (100)	32 (57)	43 (19)	41 (16)	57 (12)	55 (9)
07	35.20	43 (100)	149 (45)	71 (44)	41 (42)	32 (38)	55 (27)
08	35.50	73 (100)	43 (86)	75 (75)	41 (61)	32 (53)	55 (43)
09	41.49	32 (100)	41 (53)	57 (43)	43 (41)	149 (29)	55 (27)
10	42.50	43 (100)	57 (77)	41 (56)	32 (47)	55 (35)	71 (30)
11	42.83	32 (100)	41 (63)	73 (51)	55 (51)	43 (50)	75 (46)
12	44.11	73 (100)	43 (97)	75 (75)	32 (73)	41 (67)	55 (50)
13	46.72	43 (100)	57 (75)	41 (50)	71 (36)	55 (28)	32 (26)
14	50.81	43 (100)	57 (79)	41 (47)	71 (36)	55 (26)	32 (23)
15	52.62	32 (100)	43 (76)	73 (58)	146 (48)	41 (49)	57 (34)
16	54.83	43 (100)	57 (82)	41 (41)	71 (37)	55 (28)	85 (19)
17	55.30	41 (100)	43 (98)	57 (97)	149 (84)	55 (45)	71 (44)
18	57.44	73 (100)	57 (32)	32 (23)	41 (12)	45 (12)	75 (9)
19	58.65	43 (100)	57 (79)	41 (42)	71 (37)	55 (25)	85 (20)
20	60.15	32 (100)	43 (36)	44 (28)	73 (24)	41 (24)	146 (17)
21	62.36	43 (100)	57 (77)	71 (35)	41 (35)	55 (25)	32 (19)
22	65.95	43 (100)	57 (82)	41 (40)	71 (35)	32 (34)	55 (29)
23	66.52	69 (100)	41 (59)	81 (35)	32 (17)	1x (15)	67 (12)
24	68.80	73 (100)	368 (18)	355 (8)	179 (8)	74 (8)	45 (8)
25	69.54	73 (100)	368 (22)	43 (8)	74 (8)	355 (8)	45 (8)
26	71.71	73 (100)	283 (13)	45 (13)	32 (12)	74 (8)	75 (8)
27	72.79	43 (100)	57 (76)	32 (70)	41 (49)	44 (43)	73 (41)
28	73.59	73 (100)	45 (13)	283 (11)	32 (11)	74 (9)	44 (8)

Quadro 2. Espectros de massa do extrato derivatizado de folhas novas de cafeeiro.

Composto	Tempo de retenção	Padrão de fragmentação					
		m/z (Abundancia relativa) (%)					
01	18.18	32 (100)	73 (45)	41 (38)	75 (35)	43 (28)	57 (17)
02	21.40	32 (100)	41 (42)	57 (35)	43 (31)	97 (25)	55 (25)
03	21.80	32 (100)	43 (82)	41 (77)	55 (60)	56 (59)	57 (49)
04	24.58	67 (100)	55 (77)	42 (55)	109 (53)	82 (46)	40 (31)
05	26.32	43 (100)	32 (92)	41 (75)	57 (60)	149 (49)	58 (35)
06	26.69	32 (100)	73 (80)	43 (69)	75 (61)	41 (52)	55 (29)
07	29.77	74 (100)	43 (87)	41 (69)	87 (50)	55 (46)	32 (26)
08	35.57	73 (100)	43 (83)	75 (81)	41 (69)	117 (46)	55 (43)
09	37.21	41 (100)	67 (81)	55 (76)	81 (47)	54 (41)	43 (26)
10	37.51	41 (100)	55 (87)	43 (69)	69 (39)	74 (37)	54 (26)
11	38.65	74 (100)	43 (98)	32 (87)	41 (85)	55 (57)	87 (56)
12	42.67	75 (100)	73 (97)	41 (88)	67 (72)	55 (66)	32 (40)
13	42.93	73 (100)	41 (98)	75 (95)	55 (86)	43 (73)	32 (56)
14	44.11	73 (100)	43 (94)	75 (72)	41 (63)	32 (62)	55 (42)
15	47.82	43 (100)	99 (58)	41 (49)	55 (44)	32 (36)	57 (36)
16	55.23	57 (100)	43 (96)	41 (88)	32 (77)	149 (59)	55 (44)
17	57.44	73 (100)	32 (54)	57 (31)	45 (17)	41 (17)	44 (15)
18	66.45	69 (100)	41 (58)	32 (45)	81 (30)	68 (16)	44 (15)
19	68.56	73 (100)	368 (9)	45 (9)	74 (8)	75 (6)	179 (5)
20	69.40	73 (100)	32 (19)	368 (16)	44 (12)	45 (11)	74 (9)
21	72.91	43 (100)	73 (93)	57 (41)	41 (38)	55 (31)	223 (15)

provavelmente, cumarinas fenólicas nos extratos de folhas novas, em virtude da fragmentação dos picos nos tempos de retenção de 57.44, 68.80, 69.54, 71.71 e 73.59 min, e nos de folhas velhas, nos tempos de 68.56 e 72.91 min. No extrato de folhas novas, aparecem mais compostos flavonóides e cumarinas fenólicas, o que sugere uma alteração na composição química das folhas, à medida que elas envelhecem.

A comparação dos cromatogramas totais de íons do extrato de folhas velhas e novas mostra que o pico no tempo de retenção de 37.21 min não tem correspondente em folhas novas (Figuras 1 e 2). Quando promove o "zoom" do Cromatograma da Figura 2 (a), verifica-se que o pico a 37.21 min corresponde a dois componentes, eluindo o segundo a 37.51 min, como se observa na Figura 2 (b). Os espectros obtidos dos dois picos (Figura 3) mostram que os compostos correspondentes a eles não são fenóis, nem álcoois, uma vez que não se encontra o pico m/z 73, característico da derivatização com BSA (8).

A comparação do pico de 37.21 min com dados da literatura sugere a presença de um terpeno, em decorrência da existência do pico-base m/z 41, característico de um rearranjo de McLafferty, com a formação da espécie $[C_3H_5]$ (Quadro 3). Outros fatores

que sugerem a presença de um terpeno são: presença dos picos m/z 55 e 67, abundância de picos com intervalos de 14 unidades de massa e íon molecular pouco distinto (9).

A semelhança do pico de 37.21 min com o espectro do epóxido de limoneno indica, também, a possibilidade de esse composto estar presente em folhas velhas, muito embora o padrão de fragmentação apresentado não coincida totalmente com o proposto na literatura (2).

Comparando os dados espectrais do pico de 37.51 min com os da literatura, pode-se inferir a possível

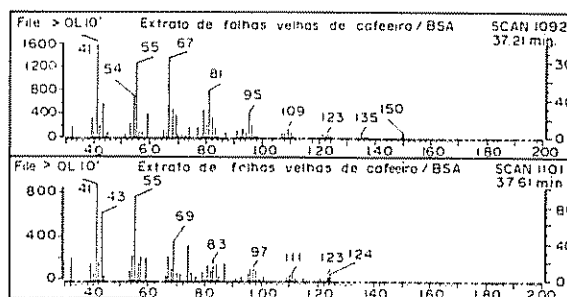


Fig. 3. Espectros de massa dos compostos referentes aos tempos de retenção de 37.21 e 37.51 min.

Quadro 3. Comparação do pico de 37.21 min com dados da literatura.

Composto	Padrão de fragmentação				
	m/z (Abundância relativa) (%)				
37 21	41 (100)	67 (81)	55 (76)	81 (47)	54 (41)
Octadecatrieno	41 (100)	55 (68)	43 (63)	67 (61)	81 (44)
Nonadecatetraeno	41 (100)	55 (69)	43 (57)	67 (34)	79 (26)
A-Selineno	41 (100)	55 (68)	93 (63)	81 (61)	67 (44)
Epóxido de limoneno	41 (100)	67 (82)	55 (55)	81 (42)	94 (42)
B-Selineno	41 (100)	93 (52)	55 (38)	67 (38)	79 (36)

existência de um hidrocarboneto ou um composto carbonílico, presumivelmente um aldeído ou uma cetona, em função do padrão de fragmentação apresentado (Quadro 4).

O pico m/z 43, com abundância relativamente grande, é característico da fragmentação de aldeídos, em clivagem, sem transferência de hidrogênio, em que a carga permanece com um fragmento alquílico de fórmula geral C_nH_{2n+i} (2).

Esse pico é também característico da fragmentação do cetonas e metilcetonas, em clivagem, originado do fragmento $[CH_3+C=O]$ (9).

No extrato de folhas novas, bem como no de folhas velhas de cafeeiro, como se pode depreender da análise dos Quadros 1 e 2, os compostos não são, em sua maioria, constituídos de derivatizados, em razão da ausência do pico m/z 73. Apesar disso, inúmeras substâncias são comuns aos dois tipos de folhas. Um desses casos pode ser exemplificado com o composto que eluiu aos 24.85 min em extrato de folhas velhas, e 23.51 min em folhas novas. Nos seus espectros, são coincidentes os picos m/z 194 $[M]^+$ 67 (100), 55 (77), 42 (55), 109 (53), 82 (46) e 40 (31).

Quadro 4. Comparação do pico de 37.51 min com dados da literatura.

Composto	Padrão de fragmentação				
	m/z (Abundância relativa) (%)				
37.51	41 (100)	55 (87)	43 (69)	69 (39)	74 (37)
Octadecadieno	41 (100)	55 (98)	43 (84)	69 (34)	83 (18)
(E)-3-Hexenal	41 (100)	55 (71)	69 (53)	39 (52)	83 (36)
2-Etilciclobutanona	41 (100)	55 (96)	42 (78)	70 (72)	56 (52)
(E)-2-Undecenal	41 (100)	70 (94)	57 (89)	43 (82)	55 (80)
(E)-3-Hexenoato de butila	41 (100)	57 (43)	69 (28)	68 (24)	55 (21)

A análise comparativa desses espectros com os da biblioteca permite sugerir tratar-se de mesmas substâncias, com grande probabilidade de ser a cafeína, substância descrita no café, até agora, apenas nos grãos.

Quanto aos picos de 37.21 e 37.51 min, a comparação de seus espectros (Quadro 5) permite sugerir a presença de um éster ou aldeído correspondentes ao pico de 37.21 min e de um hidrocarboneto para o pico de 37.51 min.

CONCLUSÕES

O presente estudo, para a identificação de metabólitos secundários em folhas de cafeeiro, foi feito a partir de substâncias com atividade antimicrobiana testadas contra o fungo *T. paradoxa*. Determinou-se que as folhas novas e velhas são ambas providas de compostos de diferentes polaridades, alguns deles possuindo pontos de ebulição muito elevados, volatilizando-se, portanto, com grande dificuldade.

A semelhança de comportamento dos dois extratos foi verificada, utilizando-se as técnicas de cromatografia em fase gasosa, com colunas capilares

Quadro 5. Comparação dos picos de 37.21 e 37.51 min com o sistema de dados do espectrômetro de massa.

Compostos	*		Padrão de fragmentação				
	Probabilidade (%)		m/z	(Abundancia relativa)			
37.21		41 (100)	67 (81)	55 (76)	81 (47)	54 (41)	43 (36)
Z,Z-9,12-Octadecadienoato de metila	83	41 (100)	67 (100)	81 (73)	79 (41)	54 (40)	95 (38)
9,12-Octadecadienal	76	41 (100)	67 (70)	81 (38)	54 (37)	68 (23)	79 (22)
E,E-912-Octadecadienoato de metila	66	41 (100)	67 (82)	79 (35)	54 (27)	59 (27)	95 (27)
37.51		41 (100)	55 (87)	43 (69)	69 (39)	74 (37)	54 (26)
5-Metil-1-hexeno	60	56 (100)	41 (69)	55 (50)	57 (41)	43 (30)	70 (22)
7-Metil-3-4-octadieno	48	67 (100)	81 (57)	39 (45)	53 (36)	82 (34)	68 (77)
3,4-Dimetil-1-penteno	37	56 (100)	55 (75)	70 (62)	43 (61)	41 (52)	83 (15)

* Biblioteca Wiley do Sistema HP - 1000E RTE - 6 VM.

BP-20 (Coluna A) e BP-1 (Coluna B) acopladas ao espectrômetro de massa (GC/MS), que permitem a detecção de compostos com atividade antimicrobiana, extraídas de placas de cromatografia em camada fina.

Encontraram-se nos extratos de folhas novas de cafeeiro, analisados em coluna B, 28 compostos ativos contra *T. paradoxa*, dos quais apenas 12 apresentaram o pico m/z 73, característico de substâncias derivatizadas. Destes últimos, cinco mostraram-se semelhantes a compostos flavonóides, em decorrência do padrão de fragmentação apresentado.

Em extratos de folhas velhas foram detectados 21 compostos, usando-se a mesma técnica. Destes, 10 assemelharam-se a substâncias derivatizadas, das quais duas apresentaram um padrão de fragmentação de flavonóides.

A análise comparativa dos TIC dos extratos permitiu a conclusão de que, em folhas velhas, existem dois picos de grande intensidade que não encontram correspondentes em folhas novas. Isto pode estar associado à resistência de folhas velhas a determinados fitopatógenos, normalmente compatíveis com folhas novas, como acontece com *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. A análise espectrométrica destes dois picos permitiu deduzir uma semelhança com aldeídos, ésteres, hidrocarbonetos, terpenos e compostos

terpenóides. A comparação deles com dados da literatura permitiu concluir que o pico de 37.21 min tem grande probabilidade de ser o terpenóide epóxido de limoneno ou o hidrocarboneto octadecatrieno. Já o pico 37.51, com o mesmo procedimento comparativo, apresenta probabilidades de ser o hidrocarboneto octadecadieno ou o aldeído (E)-2-undecenal.

A comparação do espectro correspondente ao pico de 37.21 min com o sistema de dados do espectrômetro de massa permite deduzir uma semelhança com o éster metílico do ácido Z,Z-9,12-octadecadienóico e com o aldeído 9,12-octadecadienal. Quanto ao pico de 37.51 min, há probabilidade de ser o hidrocarboneto 5-metil-1-hexeno.

Estão sendo conduzidos estudos para demonstrar quais desses compostos possuem realmente atividade nas folhas contra fitopatógenos.

LITERATURA CITADA

- 1 AMORIM, H V., ALVAREZ, M L M., LOPES, C R, CARVALHO, A., MONACO, L C. 1978. Análise de compostos fenólicos em folhas de cafeeiros resistentes e susceptíveis a *Hemileia vastatrix*. Turrialba 28(1):57-60.
- 2 BUDZIKIEWICZ, H., DJERASSI, C., WILLIAMS, D H. 1967. Mass spectrometry of organic compounds. Holden-day, San Francisco. 690 p.

3. CASTEEL, K V., DE POOTER, H., VAN SUMERE, C F. 1976. Gas chromatographic separation and analysis of trimethylsilyl derivatives of some naturally occurring non-volatile phenolic compounds and related substances. *Journal of Chromatography* 121:49-63.
4. DIECKMANN, R.H., PALAMAND, S.R. 1974. Autoxidation of some constituents of hops. I. The monoterpene hydrocarbon, myrcene. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 22(3):498-503.
5. FRIEDEL, P., KRAMPL, V., RADFORD, T., RENNERT, J.A., SHEPHARD, F.W., GIANTURCO, M.A. 1971. Some constituents of the aroma complex of coffee. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 19(3): 530-532.
6. HOLLOWAY, P.J., DEAS, A.H.B., KABAARA, A.M. 1972. Composition of cutin from coffee leaves. *Phytochemistry* 11:1443-1447.
7. OLIVEIRA, J.R. 1988. Idade da folha e susceptibilidade do cafeeiro a *Pseudomonas cichorii* e a *Pseudomonas syringae* cv. Garcae. Tese, M. Sc., Universidade Federal de Vicosa. 77 p.
8. SHARKEY JR, A.G., FRIEDEL, R.A., LANGER, S.H. 1957. Mass spectra of trimethylsilyl derivatives. *Analytical Chemistry* 29(5):770-776.
9. SILVERSTEIN, R.M., BASSLER, G.C., MORRILL, T.C. 1981. *Spectrometric identification of organic compounds*. 4 ed. John Wiley, New York. 442 p.

RESEÑA DE LIBROS

INTERACTIONS AT THE SOIL COLLOID-SOIL SOLUTION INTERFACE. 1991. G.H. Bolt, M.F. De Boodt, M.H.B. Hayer, M.B. McBride (Eds.). Holanda, Kluwer Academic Publishers Dordrecht. 603 p.

Los fenómenos que ocurren en la superficie de la parte coloidal del suelo son de gran importancia, tanto por el uso agrícola como por sustancias extrañas. Los residuos industriales y las sustancias agroquímicas reaccionan con estas superficies en un medio fuertemente influido por las propiedades de la solución del suelo. Un grupo de veintidós distinguidos químicos de suelos, la mitad de ellos europeos y el resto de otros continentes, examinan, en este texto, esos problemas y agregan a los capítulos amplias bibliografías, que permiten al lector profundizar en aspectos específicos. En general, este texto requiere buenos conocimientos de química para ser aprovechado.

La primera parte, casi 120 páginas, se dedica a los aspectos básicos de los procesos de interacción que ocurren en las superficies coloidales. Se examinan al detalle los procesos electroquímicos que determinan la absorción en las superficies bastante heterogéneas, características de los suelos. La segunda analiza una serie de casos específicos de iones unidos a los constituyentes de los suelos. Se enfatiza en la absorción de metales pesados, contaminantes importantes, de origen agroquímico o industrial. Se profundiza también en el complejo proceso de unión fosfato-suelo. La parte tercera del volumen se dedica a los procesos de

interacción que involucran sustancias orgánicas. Evidentemente se consideran tanto los componentes macromoleculares del suelo, capaces de absorber iones inorgánicos, como las sustancias orgánicas de tamaño reducido que reaccionan con coloides inorgánicos y orgánicos y la formación de quelatos con iones metálicos; lo mismo que los procesos de interacción múltiple.

Los mecanismos de las reacciones y sus principios se exponen y se discuten de manera que su comprensión sea posible con moderados conocimientos de química. Es la más larga de las cuatro partes. Los efectos de residuos añadidos al suelo y al agua se discuten en la cuarta parte, la más corta de todas. Se discute el uso de los abonos químicos, de la contaminación de residuos del aire y de la industria. Se consideran, en general, los hechos y los procesos que ocurren, ya que su manejo apropiado es la clave para la agricultura sostenible.

Todos los capítulos tienen amplias bibliografías que presentan la experiencia americana y la de los países industrializados de Europa Occidental. Además, buenos índices de materias e incluso de autores hacen más fácil el manejo de este volumen, que ofrece información útil para los investigadores en este campo y los profesores de posgrado que difunden la información pertinente.

ELEMER BORNEMISZA
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Determination of a Pre-Vernalization Phase in Carrot (*Daucus carota* L.) cv. Flakkee¹

G. Galmarini*, R. Borgo*, R. Tizio**

ABSTRACT

The present study was conducted to determine the presence of a prevernalization phase in carrot (*Daucus carota* L. cv. Flakkee), before vernalization at low temperatures. Carrot plants and seedlings in the following phenological stages: 9 to 10, 7 to 8, 5 to 6, 3 to 4, 1 to 2 leaves and in cotyledon stage, grown under long-day conditions (14 h, 280 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$) and temperatures ranging from $25 \pm 1^\circ\text{C}$ day and $20 \pm 1^\circ\text{C}$ night, were simultaneously exposed at low temperatures ($7 \pm 1^\circ\text{C}$ day and $5 \pm 1^\circ\text{C}$ night) and short days (10 h, 280 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$) during 55 days. In addition, germinating and dried seeds were also treated. Later, the plants were exposed to long days (16 h) and $25 \pm 1^\circ\text{C}$ day and $20 \pm 1^\circ\text{C}$ nights. Only those plants which were at the stage of 9 to 10 leaves at the beginning of the cold treatment bolted and flowered normally. This indicates that cv. Flakkee has a pre-vernalization phase which lasts until the 9 to 10-leaf stage is reached.

INTRODUCTION

Carrots, vegetative rosette plants, have been classified as day-neutral plants with a vernalization requirement necessary for flower initiation (2, 4, 12, 13). Atherton *et al.* (1) suggested that carrots are short-day (SD)-long-day (LD) plants, with cold requirements to flower.

In Argentina, carrots of European origin have a biennial behavior; that is, seed sown in "La Consulta" (Mendoza, $33^\circ 44'\text{S}$) in April remain in the rosette stage during spring and summer. The shoot is vernalized the next winter and flowering occurs during the spring of the second year. Other groups of carrots, the "Criolla-

COMPENDIO

El presente trabajo fue realizado con el fin de determinar la existencia de una fase de prevernalización en *Daucus carota* L. cv. Flakkee. Se utilizaron plantas de zanahoria en los siguientes estados fenológicos: 9 a 10 hojas, 7 a 8 hojas, 5 a 6 hojas, 3 a 4 hojas, 1 a 2 hojas y en estado cotiledonar, que crecieron en condiciones de días largos (14 h, 280 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$) en temperaturas de $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ en la luz y $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ en la oscuridad, y fueron expuestas simultáneamente a condiciones con bajas temperaturas ($7^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ en la luz y $5^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ en la oscuridad) y días cortos (10 h, 280 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$) durante 55 días. De igual manera fueron tratadas las semillas secas en estado avanzado de germinación. Posteriormente todo el material se sometió al tratamiento de días largos (16 h) bajo el mismo régimen térmico de 25°C en la luz y 20°C en la oscuridad. Sólo las plantas correspondientes al estado de 9 a 10 hojas entallaron y florecieron al inicio del tratamiento en frío. Estos hechos indican que el cv. Flakkee posee una fase de prevernalización que culmina con la emisión de la novena a décima hojas.

type" population, have a high percentage of bolting during the same sowing year, even when the carrots are sown in the late winter or early spring. Lona and Crnko (8) suggested that European carrots have a long pre-vernalization phase, which might be absent in the "Criolla-type" population.

The minimum vernalization treatment required for carrot flower initiation and carrot seedstalk development in cultivars like Chantenay, French Forcing, Nantes and Imperator varies between periods of 15 to 60 days at temperatures ranging from 4°C to 15°C (9). Several authors agree that carrots must reach a certain stage of development before low temperatures can be effective in promoting flowering (3, 6, 8, 14). On the other hand, Kumaki (7) was able to vernalize carrot seeds. He exposed them to temperatures of 2°C to 3°C during three months. No reports have been published on vernalization requirements in cv. Flakkee.

The aim of our work was to determine the existence of a prevernalization phase in cv. Flakkee measured in chronological age and number of leaves under controlled conditions. This will contribute to the adjustment of sowing dates for seed production, especially for the "seed-to-seed" method.

1 Received for publication 20 April 1990.
This research was supported by a financial grant no. 5050925/85 of Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Arg

* Research scientist, Estación Experimental La Consulta, INTA, Mendoza, Arg.

** Laboratorio de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo (5505), Chacras de Coria, Mendoza, Arg

MATERIAL AND METHODS

Carrot seeds of cv. Flakkee were periodically sown in flats containing a mixture of peat, soil and sand (1:1:1). When the seedlings reached the second leaf stage, they were individually potted in 950 cm³ containers. Plants were grown in a Sherer Growth Chamber Model Cel 512-37 (Sherer-Gillette Co.), at temperatures of 25°C ± 1°C/day and 20°C ± 1°C/night, under long photoperiods (14 h, PAR:280 Umol s⁻¹ m⁻²) provided by cool white fluorescent tubes and incandescent lamps. Thereafter, 20 plants from each of the following phenological stages: 1 to 2, 3 to 4, 5 to 6, 7 to 8, 9 to 10 leaves and at the cotyledonary stage were simultaneously exposed to low temperatures (7°C ± 1°C/day and 5°C ± 1°C/night) under short-day conditions (10 h, PAR: 280 Umol s⁻¹ m⁻²) for the next 55 days (Table 1). These conditions were selected to simulate winter conditions.

Seeds were germinated by sowing them on humid filter paper at 25°C in Petri dishes. Four days later, they were potted in 950 cm³ containers. Dried seed were also sown directly in individual pots. Both treatments were exposed to the same cold conditions as described above.

After cold treatment, the plants were placed under long photoperiods (16 h, PAR:280 Umol s⁻¹ m⁻²) at 25°C ± 1°C/day and 20°C ± 1°C/night to promote flowering.

Plants were periodically watered with half-strength Hoagland's nutrient solution (5). Leaf development,

bolting and flowering were recorded twice weekly. Plants were considered bolted or flowered when the first elongated internode and/or the first primordium of umbel could be seen macroscopically. A completely randomized experimental design, including 8 treatments replicated twenty times, was used (Table 1).

Table 1. Time (in days) between sowing date and the beginning of cold treatment in carrot cv. Flakkee.

Treatment	Number of leaves	Days after sowing
1 Dried seeds		0
2 Germinating seeds		4
3 Cotyledonary leaves		20
4	1-2	33
5	3-4	49
6	5-6	63
7	7-8	84
8	9-10	102

RESULTS

Only those plants that were at the stage of 9 to 10 leaves at the beginning of the cold treatment (treatment 8) bolted and flowered. Other treatments remained as vegetative rosette plants (Table 2). At the end of the experiment, there was a 67 percent of the plants in treatment 8 flowered, while none in the other treatments did.

Table 2. Effect of cold treatment on leaf number, bolting and flowering in carrot plants cv. Flakkee with different number of developed leaves.

Treatment	Leaf number before cold treatment*	Leaf number after cold treatment*	Days after cold treatment to reach 50%		Bolting and flowering at the end (%)	
			bolting	flowering	bolting	flowering
1	Dried seeds	Ger seeds	NB	NF	0	0
2	Ger seeds	1.5	NB	NF	0	0
3	EC	2.3	NB	NF	0	0
4	2	3.9	NB	NF	0	0
5	3.5	6.6	NB	NF	0	0
6	6	7.1	NB	NF	0	0
7	7.3	9	NB	NF	0	0
8	9.3	10.9	112	155	67	67

References: Ger. seeds: Germinating seeds, EC: Expanded cotyledons, NB: No bolting, NF: No flowering, *: Mean values.

During the cold treatment, there was a moderate development of new leaves. It was comparatively greater in treatment 4 than in the other phenological stages (Table 2). Moderate seed-stalk elongation was observed in flowered plants.

DISCUSSION

This study shows that cv. Flakkee has a pre-vernalization phase, which lasts until the plants have at least 9 to 10 leaves (about 14 weeks from sowing, under the experimental conditions tested). These results do not agree with those from Kumaki (7), who was able to vernalize carrots at seed stage. Cultivar differences may account for this fact.

Further studies are needed to determine the critical temperatures and exposition time necessary to vernalize cv. Flakkee.

These results could assist in selecting areas and sowing dates for seed production with more accuracy, when the "seed to seed" method is required.

LITERATURE CITED

1. ATHERTON, J.G.; BASHER, E.A.; BREWSTER, J.L. 1984. The effects of photoperiod on flowering in carrot. *Journal of Horticultural Science* 59:213-215.
2. DICKSON, M.H.; PEIERSON, C.E. 1960. The influence of gibberellin on the flowering of carrots. *Canadian Journal of Plant Science* 40:468-473.
3. HARRINGTON, J.F.; RAPPAPORT, L. 1957. Effect of gibberellic acid on seedstalk development and flowering of vegetable seed crops. In American Society of Horticultural Science Annual Meeting. Stanford, Calif., Stanford University.
4. HILLER, L.K.; KELLY, W.C. 1979. The effect of post-vernalization temperature on seedstalk elongation and flowering in carrots. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 104:253-257.
5. HOAGLAND, D.R. 1948. Lectures on the inorganic nutrition of plants. Waltham, Mass. *Chronica Botanica*. 177 p.
6. JUNGES, W. 1959. Abhängigkeit des schossens bei neuer gemüsepflanzen von ihrem alter und von der dauer der einwirkung niederer temperaturen. *Archiv. Gartenbau* VII Band, Heft 7:485-504.
7. KUMAKI, Y. 1956. Vernalization experiments in carrots. *Journal of the Horticultural Association of Japan* 25:163-166.
8. LONA, J.L.; CRNKO, J. 1967. Floración prematura en zanahoria en las condiciones de La Consulta en relación a la producción de semilla. Mendoza, Arg., INTA, Centro Regional Andino, E.E.A. La Consulta. p. 4.
9. QUAGLIOTTI, I. 1967. Effect of different temperatures on stalk development, flowering habit and sex expression in the carrot (*Daucus carota* L.). *Euphytica* 16:83-103.
10. SAKR, E.S.; THOMPSON, H.C. 1942. Effect of temperatures and photoperiod on seedstalk development in carrots. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 41:343-346.
11. VINCE-PRUE, D. 1975. *Photoperiodism in plants*. London, McGraw-Hill.
12. WITTWER, S.H.; BUKOVAC, M.J. 1957. Gibberellin effects on temperature and photoperiod requirements for flowering in some plants. *Science* 126:30-31.

Efectos de Diferentes Distancias entre Hileras y Sistemas de Podas sobre Crecimiento y Producción de *Capsicum frutescens* L.¹

B. Añez,* C. Figueredo*

ABSTRACT

This study evaluated the effect of different pruning systems (PS) and row spacings (RS) on vegetative growth and production of tabasco pepper (*Capsicum frutescens* L.) plants. We tested three RS: 0.80 m, 1.20 m and 1.60 m and four PS: in seed bed (SBP), in the field (FP), SBP + FP, and nonpruned plants. The trial was conducted as split-plot factorial arrangement of treatments in a randomized complete block design with four replications on a Typic Cambortid sandy-clay-loam soil at San Juan de Lagunillas, Mérida, Ven. Plant heights and number of branches until 280 and 51 days after transplant respectively were positively affected by SBP. Production of fruit per plant was influenced by RS x PS interaction. Mean fruit size 1.00 g/fruit was unaffected by the treatments. Early fruit yield (kg/ha) increased independently as RS decreased and with SBP. Late production was affected by RS x PS interaction. Total fruit yield (12 harvests) were only influenced by pruning systems with higher yield (5725.36 kg/ha) corresponded to the seed bed pruned plants.

INTRODUCCION

Nuestros aborígenes tenían como costumbre el uso del ají, principalmente, en la preparación de sus comidas, tradición que se ha mantenido hasta nuestros días. Su consumo, que se limitaba a la preparación de encurtidos y de algunas comidas con ají dulce, así como de salsas y vinagres con ají picante, ha aumentado y se ha generalizado en una gran variedad de comidas "criollas", entre las que sobresalen las sopas, hervidos, arroces y estofados de diferentes carnes, aves y pescados con ají dulce y los "vinagres" o salsas picantes. En 1985, la producción de ají en Venezuela era muy baja, aunque si se exportaba e importaba (5) en cierta cantidad. En 1986, el cultivo de ají dulce abarcaba 37.5 ha sembradas y 169.5 t, y el ají picante, 42 ha y 221.46 t, respectivamente (6).

COMPENDIO

Se evaluó el efecto de diferentes sistemas de podas y distancias entre hileras sobre el crecimiento vegetativo y la producción de plantas de "ají tabasco" (*Capsicum frutescens* L.). Se probaron tres DH: 0.80 m, 1.20 m y 1.60 m y cuatro SP: en semillero (PS), en campo (PC), PS + PC y sin poda, en un arreglo de parcelas divididas en bloques al azar con cuatro repeticiones. El trabajo de campo se realizó en un suelo Cambortid típico franco-arcillo-arenoso de San Juan de Lagunillas Edo. Mérida, Ven. Las alturas y el número de ramas fueron afectados positivamente por la PS pero no por las DH hasta 280 d y 51 d después del trasplante. La producción de frutos por planta fue influida por la interacción DH x SP. El tamaño medio de los frutos (1 g por fruto) no sufrió alteraciones con los tratamientos. El rendimiento en kilogramos por hectárea de la producción temprana aumentó con la disminución de las DH y las PS. La producción tardía fue afectada por la interacción DH x SP. Los rendimientos totales (12 cosechas) padecieron los efectos de los SP; sobresalieron las plantas PS con rendimientos medios de 5725.36 kg por hectárea. La producción total de fruta (12 cosechas) sólo fue influenciada por el SP con un rendimiento alto de 5725.36 kg por hectárea.

Las plantas del género *Capsicum* son ligeramente leñosas, perennes, anuales y crecen verticalmente entre 60 cm y 120 cm de alto. Los frutos son bayas, excepto el pimentón y los ajíes muy grandes; tienen forma de vainas; pueden ser rojos o verdes; dulces o picantes y con muchas semillas. Después de la germinación, las plantas de pimentón crecen vegetativamente produciendo un número relativamente constante de hojas en el tallo principal hasta que aparece una flor en su ápice. Luego, se abren dos yemas encerradas en las axilas y en cada nudo subsecuente se repite este patrón.

El fruto en desarrollo inhibe el crecimiento vegetativo de raíces y tallos, además reduce la rata de crecimiento de las yemas florales de pimentón. Al contrario, cuando ese porcentaje se aproxima a cero, las raíces, los tallos y las yemas florales aumentan ostensiblemente su crecimiento, resultando un patrón cíclico entre crecimientos vegetativos y reproductivos del pimentón.

El rendimiento de frutos, peso seco de las raíces y peso seco total de los cultivares de pimentón Keystone Resistant Giant y Ladybell, aumentaron linealmente a

¹ Recibido para publicación el 30 de julio de 1991

* Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP), Universidad de los Andes, Apartado 220. Mérida. Código Postal 5101. Ven

medida que la duración del crecimiento vegetativo se extendía por la defloración (1). Se devió la productividad del pimentón al podar semanalmente los brotes terminales, las yemas florales, las flores y los frutos pequeños hasta tres semanas antes del trasplante. McCraw y Greig señalaron que, al trasplantar plantas podadas de 11 semanas de edad, el número de frutos comerciales se incrementaba en la producción temprana de todos los cultivares probados, en comparación con las de trasplantes de 11 semanas sin podar y de plantas trasplantadas a las ocho semanas podadas o no. Hubo una tendencia hacia un aumento en la fructificación de las plantas más viejas.

En Florida (EE.UU.), la mayor parte de la explotación comercial de pimentón se realiza en eras levantadas y cubiertas con polietileno. Las distancias recomendadas entre eras varían de 1.5 m a 1.8 m y desde 0.8 m a 1.2 m para dos, y una hilera de plantas por era, respectivamente. Las distancias dentro de las hileras pueden ser de 23 cm a 30 cm, con una o dos plantas por sitio de siembra. Stofella y Bryan (9) consiguieron la disminución del peso de las raíces y de los brotes aéreos, de la relación brotes aéreos y raíces y de los diámetros de los tallos, mientras que, en general, las alturas de las plantas aumentaron en las más altas poblaciones. El número de ramas primarias y secundarias por planta en los dos experimentos promedió 2.7 y 5.3, respectivamente, y no fue influido por las poblaciones probadas. El rendimiento de los frutos comerciales por hectárea aumentó linealmente con el aumento de las poblaciones. El número de frutos comerciales y el peso de los frutos por planta disminuyeron a las más altas poblaciones, en tanto que el peso de los frutos (gramos por fruto) no fue afectado. En eras de 1.1 m de ancho, 0.18 m de alto, espaciadas 1.82 m de centro a centro, con dos hileras separadas por 46 cm en cada era y 25 cm entre plantas en las hileras con dos plantas por sitio de siembra (81 109 plantas por hectárea), dieron como resultado óptimo rendimiento de frutos comerciales de pimentón.

En el mismo sitio se determinó, en el caso del ají dulce, que la mayor altura de las plantas correspondió a la población de 25 000 plantas por hectárea (1.0 m x 0.4 m). En poblaciones más bajas las plantas desarrollaron un mayor número de ramas y frutos más pesados. Los mejores rendimientos totales (nueve cosechas) y la mayor cantidad de frutos fueron obtenidos de las poblaciones más altas, siendo la de 25 000 plantas por hectárea la de mayor rendimiento (11).

El ají picante, conocido como "chile", de la voz nahuatl "chilli" del centro de México y del arahuaco de Centroamérica y Suramérica, debe su característica al compuesto de capsaicina ($C_{18}H_{29}NO_3$), presente en los tipos "tabasco", "chile" y "cayena". El compuesto

se localiza en los cruces o "septas" de las paredes y, generalmente, está presente en la placenta. Las paredes externas y las semillas del ají no son picantes, pero se contaminan fácilmente de las otras regiones del fruto. Se usa como polvo seco, en salsa y como especia en la cocina, y, junto a sus propiedades clásicas, estimula el apetito o enmascara el hambre cuando se consume solo. El ají contiene más del doble de vitamina C que los cítricos y dosis importantes de vitaminas A, B₁, B₂, B₅ y algunos minerales.

Las plantas de "chile" son muy tolerantes a las altas temperaturas, alcanzan su estado de madurez (frutos de color rojo) aproximadamente 75 días después del trasplante y pueden ser cosechadas continuamente hasta por un año (2, 3).

El corte manual del meristema apical y tres milímetros del tallo principal, dos semanas después del trasplante en tres cultivares, no influyó en la altura de las plantas ni en el rendimiento total de frutos (4). Por otra parte, Sundstrom *et al* (10) encontraron, al evaluar cuatro distancias entre plantas (10 cm, 20 cm, 41 cm y 81 cm) en hileras separadas por 1.67 m, que los rendimientos de "ají tabasco" rojo cosechado mecánicamente aumentaron con la reducción de las distancias entre plantas, mientras que el diámetro del tallo disminuyó con la disminución de las distancias de 81 cm a 10 centímetros.

En Venezuela se conocen varios tipos de ají, los cuales presentan su característica condición de picante en gradaciones; el más fuerte se llama "chirel" de tamaño pequeño y forma aguzada. Le siguen los medianos, redondos y alargados, algunos de gran tamaño y con semejanza al pimentón.

Las condiciones ecológicas de muchas regiones andinas bajas hacen atractiva la siembra del ají picante "tabasco". Debido a que su manejo responde a un "paquete tecnológico" correspondiente a otras latitudes, se ha emprendido una serie de experimentos para lograr el manejo del "tabasco" en las latitudes correspondientes a Venezuela. En tal sentido, los objetivos del presente estudio fueron: determinar la influencia de las podas sobre la conformación arquitectónica de las plantas de "ají tabasco" y medir el efecto que, sobre la producción, tienen las podas en plantas sometidas a diferentes distancias de siembra entre hileras.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo de campo se realizó en la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Universidad de los Andes (IIAP-

ULA), en San Juan de Lagunillas, Estado de Mérida (08 31' N, 71 21' O), altitud 1104 msnm, precipitación promedio de 528 mm anuales y temperatura media anual de 22 centígrados. Ochoa y Malagón (7) describieron la zona como de clima Bswb, zona de vida, bosque seco premontano subtropical, vegetación hortícola bajo riego, suelo Cambortid típico, franco fino, micacco isohipertérmico. El análisis de una muestra compuesta del mismo (0-20 cm) mostró los valores siguientes:

Clase	ph	CO	N total	C/N	P Olsen	K Aprox	Mg Aprox
Textural	1:2	(%)	(%)		(ppm)	(mEq/100g)	(mEq/100g)
FAa	7.8	1.2	0.08	15	8	0.3	0.9

El diseño experimental usado fue un arreglo de parcelas divididas en bloques al azar con cuatro repeticiones. Los tratamientos fueron:

— Para las parcelas principales:

- A. 0.80 m de distancia entre hileras.
- B. 1.20 m de distancia entre hileras.
- C. 1.60 m de distancia entre hileras.

— Para las subparcelas:

1. Plántulas podadas en semillero.
2. Plántulas sin podar más podas de campo.
3. Plántulas podadas más podas de campo.
4. Plántulas sin podar y sin podas de campo.

Cada subparcela estuvo conformada por tres hileras de 2.4 m de largo cada una. La distancia entre plantas fue de 0.4 m para todo el ensayo.

La semilla de ají picante "tabasco" se obtuvo en noviembre de 1987, de frutos escogidos de una plantación comercial ubicada en Quebrada de Piedra, municipio Nueva Bolivia, departamento Justo Briceño, estado de Mérida. El 11 de enero de 1988 se sembró un semillero de 10 m² previamente desinfectado con

Basamid. La germinación ocurrió nueve días más tarde. Se hicieron dos aplicaciones de urea al 1% en agua.

La poda se efectuó el 22 de febrero de 1988 (35 días después de la germinación) y consistió en eliminar manualmente la parte superior de las plántulas. El crecimiento apical se colocó entre los dedos índice y pulgar y, mediante un pequeño movimiento del pulgar sobre el índice, se realizó la operación. Plántulas con características visualmente similares (Cuadro 1) se trasplantaron el 4 de marzo de 1988 (46 días después de la germinación) a un suelo preparado con tractor (dos pasadas de arado y dos de rastra) y fertilizado con 1000 kg/ha de la fórmula 15-15-15, en el momento del trasplante.

Se dio mantenimiento consistente en desyerbes con escardilla, riegos por surco, fertilización y aplicación de fungicidas e insecticidas cuando se necesitaron.

El 26 de mayo de 1988 (51 días después del trasplante) se anotó la altura y número de ramas de las plantas, y el 10 de junio de 1988 se registró la disposición de las ramas en el tallo. Cien días después del trasplante se realizó la primera cosecha, cuyos datos, al igual que todos los registrados en el estudio, se tomaron de tres plantas de la hilera central de cada tratamiento. Las cosechas se efectuaron el 29 de junio, 15 y 27 de julio y 23 de agosto cuando los frutos estaban rojos (maduros). Después de cada cosecha, se asperjaron mezclas de fungicidas e insecticidas, alternando Dithane M-45 al 0.5% más Thiodrex al 0.3% en agua con Antracol al 0.5% y Malathión 57 al 0.3%, también en agua.

A los 78 días después de la primera cosecha, se tomó la altura de las plantas y se procedió a podar las seleccionadas de acuerdo con el diseño del ensayo. La poda consistió en eliminar completamente la parte superior de las plantas por encima de los 35 cm del nivel del suelo. El 13 de setiembre de 1988 y el 3 de febrero de 1989 se volvió a abonar con la fórmula 15-15-15 a razón de 1000 kg por hectárea.

Cuadro 1. Características de las plántulas de "ají tabasco" al momento del trasplante*

Identificación	Longitud (cm)	Diámetro (cm)	Hojas (núm.)	Ramas (núm.)
Plántulas podadas	17.45	0.50	6.60	8.65
Plántulas sin podar	22.98	0.42	13.25	1.45

* Cada valor es un promedio de 20 plántulas.

Las cosechas se reanudaron el 20 de setiembre de 1988 y se continuaron el 20 de octubre y el 9 de noviembre del mismo año, así como el 4 de enero, el 16 de marzo y el 25 de mayo de 1989. Las plantas podadas se cosecharon de nuevo 72 días después de la poda (9 de noviembre de 1988). En todas las cosechas se registró el número, tamaño y peso de los frutos por planta y el rendimiento en kilogramos por hectárea de los frutos correspondientes a cada tratamiento.

Concluido el ensayo el 12 de junio de 1989, se midieron las alturas y el número de ramas por planta. Se hicieron análisis de variancia de las alturas de las plantas, de los rendimientos de frutos (kg/ha), de la producción de frutos por planta y peso de los frutos (gramos por fruto), en sus valores originales, en tanto que el número de ramas se transformó en valores $X + Y$ y X , para evitar que las medias y las variancias tendieron a ser iguales y según la distribución de Poisson (8).

RESULTADOS

Características vegetativas. La altura de las plantas de "ají tabasco" registrada a los 51 d y 280 d después del trasplante no recibió la influencia de las distancias entre hileras, pero sí de las podas de las plántulas en el semillero (Cuadro 2).

El número de ramas primarias y secundarias consideradas en conjunto y el número total de ramas por planta a los 51 días después del trasplante fueron afectados significativamente por las podas de las plántulas en el semillero (Cuadro 2), pero no por las distancias entre hileras.

Al darse por finalizado el trabajo de campo, 315 días después de PC, ni las alturas ni el número de ramas por planta sufrieron efecto alguno por los tratamientos (Cuadro 2). Las interacciones DH por SP no alteraron significativamente ninguna de las medidas de crecimiento registradas. La disposición de las ramas en el tallo se presentan en la Fig. 1.

El análisis de variancia de la producción de frutos maduros por planta en las primeras cinco cosechas de "ají tabasco", mostró diferencias significativas para la interacción "DH" por "SP". Tanto la interacción lineal como la cuadrática fueron significativas (Cuadro 3). No obstante, la proporción de la variancia de la producción (gramos por planta), responsabilidad del componente lineal, fue sólo de 49.63% y la del componente lineal más cuadrático fue del 100%; por tanto se calcularon las ecuaciones cuadráticas y se fijaron sus curvas (Fig. 2).

La producción de frutos maduros por planta de "ají tabasco" en las últimas cinco cosechas fue afectada significativamente por la interacción "DH" por "SP". Sólo la interacción cuadrática fue significativa (Cuadro 4 y Fig 3).

Los rendimientos de frutos maduros (kg/ha) en las primeras cinco cosechas de "ají tabasco" sufrieron la influencia de manera independiente y significativa de las distancias entre hileras y los sistemas de podas empleados (Cuadros 5 y 6).

La regresión lineal fue responsable del 76.49% de la variancia en los rendimientos (kg/ha) de las plantas en sus cinco primeras cosechas, como respuesta a las diferentes distancias entre hileras usadas. El coeficiente de correlación fue alto ($r = -0.8746$). La

Cuadro 2. Características vegetativas de plantas de "ají tabasco" sometidas a varios sistemas de podas (SP).

Sistema de podas	Estado de crecimiento						
	51 días después del trasplante			280 días después del trasplante		595 días después del trasplante	
	Altura (cm)	No. de Ramas		Altura (cm)	Altura (cm)	Ramas (núm.)	
T	P + S ¹	T ²	T	T	P + S ¹	T ²	
SP							
1	38.44 ab	3.19 ab	6.38 a	63.14 ab	75.46	3.74	11.78
2	33.81 b	2.88 ab	5.73 ab	60.22 ab	70.70	3.00	10.67
3	42.56 a	3.50 a	6.96 a	69.77 a	70.55	2.70	12.42
4	30.49 b	2.67 b	4.93 b	58.54 b	72.20	2.88	11.29

Notas: T = Total, P = Primarias, S = Secundarias, 1. Valores $\sqrt{X + \frac{1}{2}}$, 2. Valores \sqrt{X} .
Las medias en la misma columna seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes al nivel del 5% de acuerdo con la prueba de rangos múltiples de Duncan.

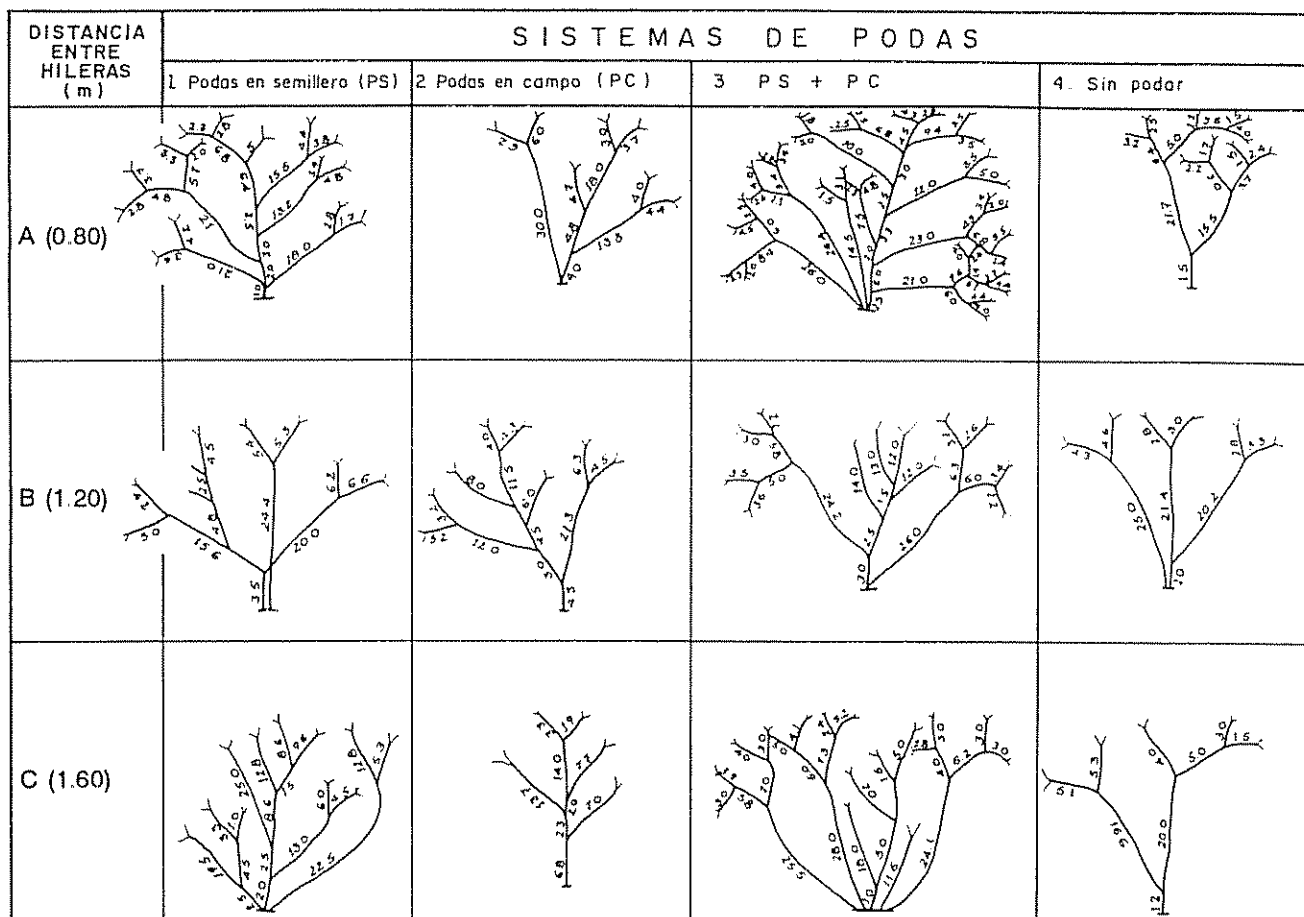


Fig. 1. Disposición de las ramas en el tallo y composición arquitectónica de plantas de ají tabasco sometidas a diferentes distancias entre hileras y sistemas de podas, 83 días después del transplante (cm)

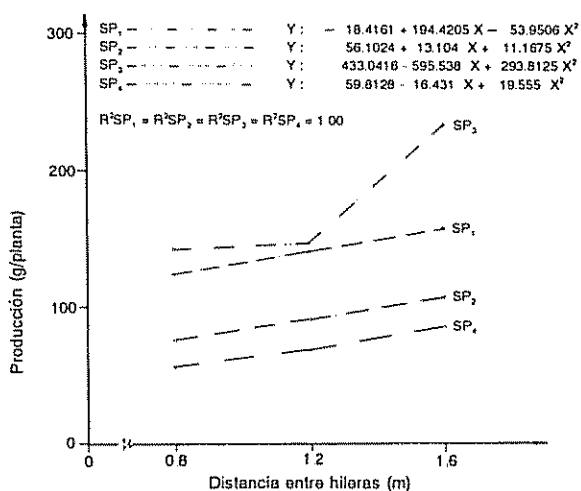


Fig. 2. Producción de frutos maduros en g/planta de las cinco primeras cosechas de ají tabasco bajo diferentes distancias entre hileras y sistemas de podas (SP).

Cuadro 3. Análisis de variancia de la producción de frutos maduros en gramos por planta de las primeras cinco cosechas de "ají tabasco" según diferentes distancias entre hileras (DH) y sistemas de podas (SP).

Fuente de variación	F. calculada			
Sistemas de podas	53.84*			
DH x SP	3.46*	r_2	r	R_2
DHL x SP	3.43*	0.4963	0.7045	-
DHC x SP	3.48*	-	-	1.00

$\bar{Y} = 115.9278$ g de frutos/planta

$CV(b) = 18.6264\%$

Cuadro 4. Análisis de variancia de la producción de frutos maduros en gramos por planta de las últimas cinco cosechas de "ají tabasco" en diferentes distancias entre hileras (DH) y sistemas de podas (SP).

Fuente de variación	F. calculada		
Sistemas de podas	14.82*		
DH x SP	3.23*		
DHL x SP	2.49 NS	R ²	
DHC x SP	3.97*		1.00

$\bar{Y} = 106.8024$ g de frutos por planta
 CV(b) = 12.6187 %

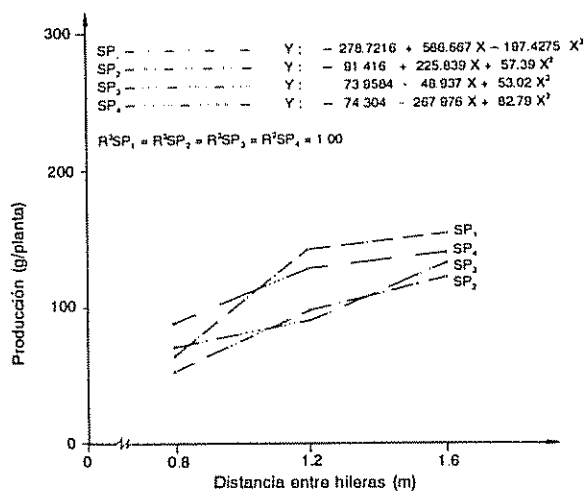


Fig. 3. Producción de frutos maduros en g/planta de las últimas cinco cosechas de ají tabasco bajo diferentes distancias entre hileras y sistemas de podas (SP).

Cuadro 5. Análisis de variancia del rendimiento (kg/ha) de frutos maduros de las primeras cinco cosechas de "ají tabasco" en diferentes distancias entre hileras (DH) y sistemas de podas (SP).

Fuente de variación	F. calculada		
Distancia entre hileras	6.26*		
Regresión lineal de DH	9.58*	r ²	r
Desviación de la RL	2.94 NS		
Sistema de podas	52.36*		
DH x SP	1.85 NS		

$\bar{Y} = 2.495.11$ kg/ha
 CV(a) = 26.35 %, CV(b) = 18.6 %

proporción de la variancia dependiente del componente cuadrático no fue significativa, por lo tanto se procedió a calcular la ecuación de regresión lineal y a fijar su curva (Fig. 4.).

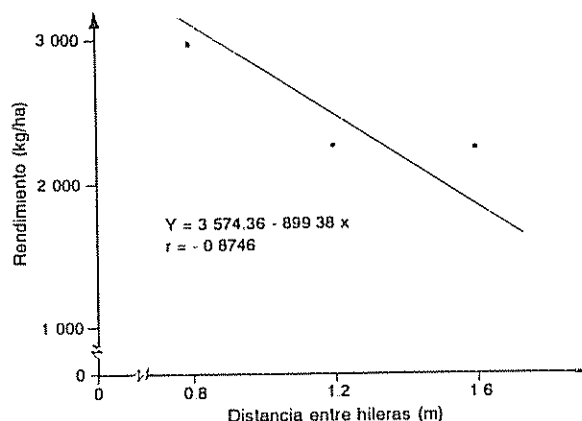


Fig. 4. Rendimiento en kg/ha de frutos de las cinco primeras cosechas de ají tabasco sometidos a diferentes distancias entre hileras

El análisis de variancia del rendimiento (kg/ha) de frutos maduros de las últimas cinco cosechas mostró diferencias significativas para la interacción "distancia entre hileras por sistema de podas". Tanto la interacción lineal como la cuadrática fueron significativas (Cuadro 7).

Cuadro 6. Rendimientos medios (kg/ha) de las primeras cinco cosechas de "ají tabasco" sometidas a varios sistemas de podas.

Sistemas de podas	3 PS + PC	1 PS	2 PC	4 SP
Medias	3.699.43	2.826.36	1.928.83	1.525.82
	a	b	c	c

Las medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes al nivel del 5% de acuerdo con la prueba de rangos múltiples de Duncan.

Al resultar significativa la interacción cuadrática DH x SP (R²=1.00), la atención fundamental se centró en averiguar los cambios de rendimientos del "tabasco" con los diferentes sistemas de podas para cada una de las distancias entre hileras empleadas. Con tal fin, se calcularon las ecuaciones de regresión y se fijaron sus curvas (Fig. 5).

DISCUSION

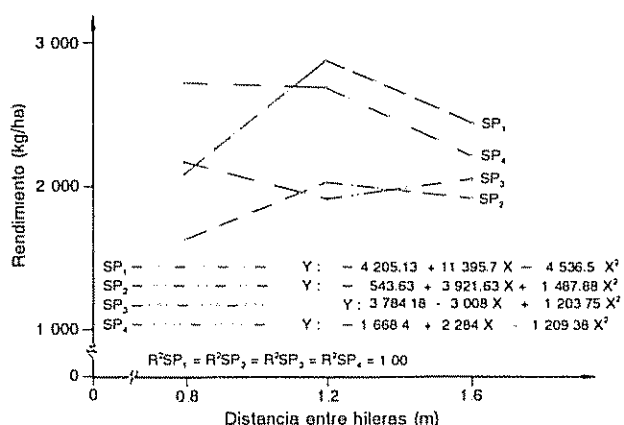


Fig 5. Rendimiento en kg/ha de frutos de las cinco últimas cosechas de ají tabasco sometidos a diferentes distancias entre hileras y sistemas de podas (SP).

El rendimiento total (kg/ha) de 12 cosechas de "ají tabasco" fue influido significativamente por los sistemas de podas, pero no por las DH ni por la interacción DH x SP (Cuadro 8).

Cuadro 7. Análisis de variancia de los rendimientos (kg/ha) de las últimas cinco cosechas de plantas de "ají tabasco" en diferentes distancias entre hileras (DH) y sistemas de poda (SP).

Fuente de variación	F. calculada			
Sistemas de podas	17.85*			
DH x SP	4.96*	r ²	r	R ²
DHL x SP	4.63*	0.466	0.683	-
DHC x SP	5.30*	-	-	1.00

$\bar{Y} = 2222.35$ kg/ha
 CV(a) = 21.31%; CV(b) = 12.02%

Cuadro 8. Rendimientos medios (kg/ha) del total de 12 cosechas de "ají tabasco" en varios sistemas de podas.

Sistemas de podas	3 PS + PC	1 PS	2 Sin podar	4 PC
Medias	5781.80 a	5668.93 a	4409.03 b	3837.63 b

PS = Poda en semillero, PC = Poda en campo
 Las medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes al nivel del 1% de acuerdo con la prueba de rangos múltiples de Duncan.

El crecimiento vegetativo representado por las alturas y el número de ramas de las plantas hasta los 51 d y 280 d después del trasplante, no fue influido por las distancias entre hileras (Cuadro 2), de manera que, en las condiciones del estudio, las poblaciones hasta de 31 250 plantas por hectárea (0.80 m x 0.40 m) pudieron crecer sin interferencias significativas. Esto contradice lo señalado por Stofella y Bryan (9) en cuanto a que en el pimentón las alturas de las plantas, generalmente, aumentan en las poblaciones más altas; no obstante coincide con ellos, en lo referente a que el número de ramas primarias y secundarias por planta no fue alterado por las poblaciones probadas. Para el ají dulce, Suniaga (11) reportó que hasta la primera cosecha (82 días después del trasplante) las densidades de siembra no afectaron las alturas de las plantas, sin embargo, al final del ciclo (131 d), la mayor altura correspondió a una de las poblaciones mayores (1.00 m x 0.40 m). Además, en poblaciones más bajas, las plantas desarrollaron un mayor número de ramas.

Las podas en semillero aumentaron tanto la altura como el número de ramas, contradiciendo lo anotado por McCraw y Greig (4) en relación con el corte manual del meristema apical, dos semanas después del trasplante; hecho que, según ellos, no influyó en las alturas de las plantas de tres cultivares de "chile".

No se registraron diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 2) en cuanto a la altura y el número de ramas por planta al concluir el trabajo (595 d y 315 d del trasplante) y las podas de campo, respectivamente.

La disposición en el tallo y la proliferación de ramas fue bastante disímil con marcada ventaja de las plantas podadas en el semillero en todas las distancias entre hileras empleadas (Fig. 1). Desde el trasplante, se observó que las plántulas podadas en semillero fueron más pequeñas, con mayor diámetro y número de ramas (Cuadro 1).

La producción de frutos maduros en las primeras cinco cosechas fue afectada por la interacción cuadrática de las DH x SP (Cuadro 3). La interacción significativa indica que los factores DH y SP no actuaron independientemente. Tal interacción puede manifestarse por una diferencia en la magnitud o en la dirección de la respuesta en la producción, como consecuencia del uso de los SP en cada una de las DH empleadas. En la Fig. 2, se nota una diferencia en la magnitud de las respuestas de producción por planta de los distintos SP en cada DH, pero, se observa además que en los SP 1, 2 y 4, la producción aumenta en forma gradual con los incrementos de las DH, y en el SP 3, la producción fue alta en relación a la distancia menor

(0.8 m), baja en cuanto a la distancia intermedia (1.2 m) y máxima a la mayor distancia (1.6 m).

La producción por planta en las últimas cinco cosechas fue también influida por la interacción cuadrática entre DH y SP (Cuadro 4, Fig. 3). En términos generales, estos resultados contrastan con los de Stofella y Bryan (9), quienes señalaron que el peso total de frutos por planta (producción) disminuyó en pimentón en las poblaciones más altas, y que el corte manual del meristema apical, dos semanas después del trasplante (4), no influyó en el rendimiento total de frutos en tres cultivares de "chile". El peso promedio de los frutos de "aji tabasco" fue de 1.08 g y 0.92 g por fruto para las primeras y las últimas cinco cosechas, respectivamente, y en ningún caso fueron afectados por los tratamientos usados, coincidiendo con Stofella y Bryan (9) para pimentón y difiriendo con Suniaga (11), quien consiguió frutos más pesados con las poblaciones menores de aji dulce.

Los rendimientos de las primeras cinco cosechas de tabasco fueron afectadas independientemente por las DH y por los SP (Cuadro 5). Los rendimientos aumentaron linealmente a medida que disminuyeron las distancias de siembra (Fig. 4) concordando con Stofella y Bryan (9), Suniaga (11) y Sundstrom *et al.* (10) para pimentón, ají dulce y "tabasco". Las PS aumentaron significativamente los rendimientos (Cuadro 6) de acuerdo con Clapham y Marsh (1) y McCraw y Greig (4) para pimentón.

En las últimas cinco cosechas los rendimientos fueron alterados significativamente por la interacción DH por SP (Cuadro 7, Fig. 5). Es evidente que las PC fueron responsables por el cambio de tendencia en los rendimientos del aji tabasco. En efecto, las plantas no podadas en campo –sistemas 1 y 4– aumentaron las tendencias de rendimientos, al pasar en las primeras cinco cosechas de 2176.09 a 2495.98 kg/ha en promedio. Por el contrario, las plantas podadas en campo –sistemas 2 y 3– redujeron sus rendimientos medios de 2814.13 kg/ha en las primeras cinco cosechas a los 1948.72 kg/ha en las últimas cinco cosechas.

El rendimiento total (kg/ha) de las 12 cosechas, durante este estudio, de las plantas de "aji tabasco", sufrió la influencia de los SP, sobresaliendo las podadas en semillero, con rendimientos medios de 5725.36 contra 4123.33 de las no podadas (Cuadro 8).

De acuerdo con los resultados obtenidos, y para las condiciones de San Juan de Lagunillas y/o zonas ecológicamente similares, se recomienda podar las plántulas en semillero, en un lapso de 30 d a 35 d después de la germinación; no podarlas en el campo y plantarlas a 0.8 m y 0.4 de distancia entre hileras y dentro de las mismas.

LITERATURA CITADA

1. CLAPHAM, W.M.; MARSH, H.W. 1987. Relationship of vegetative growth and pepper yield. *Canadian Journal of Plant Science* 67:521-530
2. LEE, C.I. 1987. 'Guam super hot' chili pepper. *Hort-Science* 22(6):1341.
3. MACGILLIVRAY, J.H. 1961. Pepper. In *Vegetable production*. New York, MacGraw-Hill. p. 334-339.
4. MAC (MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRIA). 1985. Memoria y cuenta del MAC 1985. Caracas, Ven.
5. MAC (MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRIA). 1986. Anuario estadístico agropecuario 1984. Caracas, Ven., Oficina de Planificación del Sector Agrícola, Dirección de Planificación y Estadística, División de Estadística.
6. McCRAW, B.D.; GREIG, J.R. 1986. Effect of transplant age and pruning procedure on yield and fruit-set of bell pepper. *HortScience* 21(3):430-431.
7. OCHOA, G.; MALAGON, D. 1979. Atlas de microscopía electrónica en suelos de Venezuela: Región de la Cordillera de Mérida (1000-3500 msnm). Mérida, Ven., ULACIDIAT. 40 p.
8. STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. 1960. Principles and procedures of statistics. New York, McGraw-Hill.
9. STOFFELLA, P.J.; BRYAN, H.H. 1988. Plant population influences growth and yields of bell pepper. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 113(6):835-839.
10. SUNDSSTROM, F.J.; THOMAS, C.H.; EDWARDS, R.L.; BASKIN, G.R. 1984. Influence of N and plant spacing on mechanically harvested tabasco pepper. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 109(5):642-645.
11. SUNIAGA, J. 1980. Densidades de siembra y fertilización nitrogenada en la producción de aji dulce (*Capsicum sinense*): Trabajo de ascenso. Mérida, Ven., IIAP, ULA, Facultad de Ciencias Forestales. 68 p.

Efeito da Inoculação na Nodulação e Índice de Colheita em Cultivares de Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)¹

J. C. S. Lopes*, F. F. Duque**, G. G. Pessanha**

RESUMO

Foram conduzidos quatro experimentos em campo nos anos de 1988/1989 com cultivares de feijoeiro nas épocas da "seca" (Parada Modelo e Valença 1) e das "águas" (Valença 2 e Nova Friburgo), municípios do Estado do Rio de Janeiro. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com parcelas subdivididas, com 3 fontes de N (inoculante comercial, inoculante CNPBS e 60 kg N/ha) e 6 cultivares de feijão. A nodulação foi mais influenciada pelas épocas de plantio, fertilidade do solo e localidades do que pelos inoculantes usados. As maiores nodulações das cultivares N. Argel e CNF480 refletiram-se em melhores índices de colheita. Os maiores teores de matéria seca e N total e produção de grãos das cultivares foram proporcionados pela adubação nitrogenada em relação aos inoculantes em P. Modelo e, em Valença nas duas épocas de plantio. As cultivares CNF480, 22-34 e Xodó destacaram-se na produção de grãos apenas em N. Friburgo.

ABSTRACT

Four field experiments were conducted in 1988/1989 with cultivars of bean during a dry (Parada Modelo and Valença 1) and wet season (Valença 2 and Nova Friburgo) in Rio de Janeiro State. A split plot design was used with three N sources (commercial inoculant, CNPBS inoculant and 60 kg of N/ha as a control) and six bean cultivars. Nodulation was more influenced by planting time, soil fertility and location than by inoculants. Bigger nodulations for cv. N. Argel and cv. CNF480 varieties were reflected in better harvest indexes. Larger amounts of dry matter, N total and yield in all varieties were achieved by use of nitrogen manure as inoculant in P. Modelo and at two planting time in Valença. The grain yields of cv. CNF480, cv. 22-34 and Xodó stood out only in Nova Friburgo.

INTRODUÇÃO

No Brasil, as tentativas de aumentar a fixação biológica de nitrogênio a través de inoculação das sementes de feijoeiro com *Rhizobium* específico começaram na década de 40 (4, 19). Até o presente, os resultados tem sido, em geral, inconsistentes. A capacidade que certos genótipos têm de fixar o N₂ atmosférico em simbiose tem sido pouco estudada nos programas de melhoramento fitogenético do feijoeiro. A influência da cultivar na nodulação, atividade da nitrogenase da bactéria e consequente acumulação de N nos órgãos da planta tem sido demonstrada como relevante aspecto na seleção de materiais para a fixação de N₂ (9, 13).

O comportamento de estirpes de *R. leguminosarum* biovar *phaseoli*, no tocante a intensidade de infecção junto às raízes e eficiência de fixação biológica de N₂ conduziu à necessidade de estudar a especificidade hospedeira e seleção de bactérias em solo (9).

A presença de estirpes nativas (17) e o teor de N no solo, entre outros, são fatores que evidenciam a importância da eficiência, persistência e competitividade das bactérias introduzidas no solo. Os resultados obtidos em campo divergem daqueles obtidos em casa de vegetação onde a nodulação e a capacidade de fixação do N₂ tem atingido maior potencial (6). As limitações químicas, físicas e biológicas do solo somam-se na lista dos fatores que interferem na simbiose em campo. Entretanto, resultados obtidos em campo através do balanço de N apontaram 90 kg N/ha fixados pela simbiose em plantas na fase de pré-maturação (20).

Em experimento conduzido sob condições de campo com as cultivares Carioca e Negro Argel registraram-se 31.7 e 18.4 kg de N/ha fixado pela simbiose, respectivamente, usando a técnica de diluição isotópica do ¹⁵N (6). As plantas que receberam 100 kg/ha de N

1 Recebido para publicação em 18 maio 1990.

* Engo Agrônomo, Bolsista/EMBRAPA/CNPBS, km 47 Seropédica, CEP 23851, Rio de Janeiro, RJ.

** Engo Agrônomo, M.Sc. MA/EMBRAPA/CNPBS.

*** Engo Agrônomo, D.Sc. Professor Adjunto do Departamento de Fitotecnia da UFRRJ, km 47, 23851, Seropédica-RJ, Bra.

mineral produziram menos grãos comparadas àquelas que só receberam inoculação.

Duque *et al.* (5) constataram no campo rápida decomposição de nódulos e queda da atividade da nitrogenase logo após seu pico aos 44 dias após emergência (floração). Hungria e Franco (14), mostraram declínio na atividade da nitrogenase, N total transportado, ureídeos contidos no xilema das plantas e do número de nódulos roseos após a floração, revelando processo de senescência precoce de nódulos.

O presente trabalho tem como objetivo de avaliar a nodulação e produção de grãos, em condições de campo, de cultivares de feijoeiro inoculadas com misturas de estirpes de *R. leguminosarum* biovar *phaseoli*.

MATERIAIS E METODOS

Foram conduzidos quatro experimentos sob condições de campo em regiões do Estado do Rio de Janeiro. Dois deles na época da "seca" de 1987/1988 (Parada Modelo e Valença I) e dois na época "das águas" de 1988/1989 (Nova Friburgo e Valença II).

O delineamento experimental adotado em todos os ensaios foi o de blocos ao acaso com parcelas subdivididas, com quatro repetições. Nos ensaios da "seca" cada sub-parcela era formada por 5 linhas de 3 m de comprimento espaçadas de 0.50 m entre si, enquanto nos ensaios "das águas" tinham apenas 4 linhas. A densidade de semeadura dos ensaios foi de 15 sementes/m linear.

Os tratamentos das parcelas principais foram Inoculante Comercial (1), Inoculante CNPBS (2) e N mineral (3). Este último foi realizado utilizando-se 60 kg de N/ha na forma de sulfato de amônio, sendo 30 kg aplicado no plantio e 30 kg/ha aos 25 dias após emergência (DAE) das plantas. O Inoculante Comercial (1) contém as estirpes BR266 e BR281 e o Inoculante CNPBS (2) com uma mistura das estirpes (alta eficiência relativa) CPAC H20 e H41 (nodulação precoce), CNPAF 233 e 234 (senescência tardia de nódulos).

Nas subparcelas foram colocadas as cultivares Xodo, 2234, CNF480, Negro Argel e A222. Nos ensaios "das águas", além destas, incluiu-se a cultivar Carioca 80. Todas elas tem hábito de crescimento indeterminado do tipo II e III segundo classificação do CIAT (3).

A classificação e os resultados das análises químicas dos solos, realizadas previamente, utilizados são as que se seguem:

Epoca da "seca":

Experimento 1: P. Modelo-solo aluvial hidromórfico apresentando pH 5.6, P= 34 ppm, K= 124 ppm, $Ca^{+2} + Mg^{+2} = 5.7$ mEq/100 cm³ solo; $Ca^{+2} = 2.4$ mEq/100 cm³ solo; $Al^{+3} = 0.26$ mEq/100 cm³ solo.

Experimento 2: Valença-I- Latossolo Vermelho-Amarelo apresentando, pH 4.6; P= 6.2 ppm; K= 122 ppm; $Ca^{+2} + Mg^{+2} = 2.8$ mEq/100 cm³ solo; $Ca^{+2} = 1.6$ mEq/cm³ solo; $Al^{+3} = 0.5$ mEq/100cm³ solo.

Epoca "das águas":

Experimento 3: Em Nova Friburgo-solo hidromórfico apresentando, pH 5.6, P = 506 ppm; K = 80 ppm; $Ca^{+2} + Mg^{+2} = 7.8$ mEq/100 cm³ solo; $Ca^{+2} = 5.6$ mEq/100 cm³ solo; $Al^{+3} = 0$ mEq/100 cm³ solo.

Experimento 4: Valença-II-Latossolo Vermelho Amarelo apresentando, pH = 4.8; P = 2.1 ppm; K = 86 ppm, $Ca^{+2} + Mg^{+2} = 5.4$ mEq/100 cm³ solo; $Ca^{+2} = 3.2$ mEq/100 cm³ solo; $Al^{+3} = 0.4$ mEq/100 cm³ solo.

Foi aplicado 1 t/ha de calcário dolomítico PRNT 93% nos experimentos de Valença em função do pH do solo e teores de Al, a fim de elevar o pH do solo para 5.5, conforme curva de neutralização realizada previamente. Os locais da época da "seca" (Parada Modelo e Valença I) receberam no sulco de plantio 100 kg/ha de P₂O₅ e 60 kg/ha de K₂O (superfosfato simples e cloreto de potássio). Além da calagem, em Valença II foi aplicada somente 100 kg/ha de P₂O₅ e, em Nova Friburgo não foi necessário nenhuma aplicação de adubos e corretivos, com excessão do N mineral do tratamento.

Foi feita a contagem de bactérias dos inoculantes na época da "seca", obtendo-se os seguintes resultados (no. bactérias/g inoculante):

- No. bactérias/g inoculante
1. Comercial = 2.42×10^6
 2. CNPBS = 1.47×10^7

Foram coletadas 5 plantas/subparcela para se avaliar o número e peso de nódulos secos por planta aos 15 e 45 DAE (dias após a emergência), matéria seca da parte aérea e N total acumulado na matéria seca. Por ocasião da colheita dos ensaios foram feitas as avaliações de N total no grão, rendimento de grãos, peso de 1000 grãos e índice de colheita. Para o cálculo do peso de 1000 grãos e rendimento, os valores foram corrigidos para o teor de umidade no grão em torno de 13-14%. O índice de colheita foi calculado através da relação entre a produção de grãos e o peso total da planta na época da colheita (palhada + grão).

RESULTADOS E DISCUSSOES

1. Época da "seca" de 1988, em Parada Modelo e Valença-I: A nodulação (no. e peso de nódulos secos/planta) dos ensaios está representada nos quadros 1 e 2. Comparando-a com trabalho de Pereira *et al.* (15), onde se conseguiram médias de peso de nódulos secos/planta de 75 mg, constatou-se que a nodulação foi baixa nos dois locais e nas duas épocas de coleta (15 e 45 DAE). A baixa nodulação verificada em solo hidromórfico (P. Modelo) em comparação ao latossolo vermelho amarelo (Valença), talvez seja devido aos maiores teores de N que normalmente apresentam os solos hidromórficos.

Entretanto, o inoculante CNPBS foi superior aos outros tratamentos em P. Modelo (Quadro 1), ao passo que em Valença foi semelhante ao Inoculante Comercial (Quadro 2), sendo ambos superiores ao N mineral. As cultivares de feijão apresentaram diferenças no peso de nódulos secos aos 45 DAE em P. Modelo e no número de nódulos aos 15 DAE em Valença. Em geral, verificou-se um declínio da nodulação dos 15 para os 45 DAE nos dois locais, apresentando maior intensidade em P. Modelo devido ao ataque de larvas do crisomelídeo *Cerotoma* sp. aos nódulos e raízes das plantas. Com isto, a nodulação na 2ª coleta foi prejudicada em mais da metade em relação àquela inicial. Em ambos os locais, a cultivar Negro Argel

Quadro 1. Número (n) e peso (p) de nódulos secos (mg) por plantas aos 15 e 45 DAE em P. Modelo no período da seca 1988/1989 (Médias de 20 plantas).

Tratamentos	Inoc. comercial				Inoc. CNPBS				N mineral				Médias			
	15		45		15		45		15		45		15		45	
	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p
Xodó	1	1	3	4	18	12	4	2	1	0	1	1	6.7	4	2.7ab	2ab
22-34	2	4	3	6	18	17	8	3	0	0	1	1	6.7	7	4.0ab	3ab
CNF480	1	1	4	2	34	24	17	10	0	0	1	1	11.7	8	7.3ab	4ab
Negro Argel	2	2	2	1	39	33	24	7	0	0	3	2	13.7	12	9.7a	7a
A222	2	1	0	0	17	11	2	1	0	0	0	0	6.3	4	0.7b	0b
Médias	2B	2B	2b	2ab	26A	20A	11a	7a	0B	0B	1b	1b	—	—	—	—
C.V. (% a)	59	51	34	31												
b)	18	27	23	23												

Valores seguidos pelas mesmas letras maiúsculas (nº e peso nódulos aos 15 DAE) e minúsculas (nº e peso de nódulos aos 45 DAE) não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Quadro 2. Número (n) e peso (p) de nódulos secos (mg) por plantas aos 15 e 45 DAE em Valença no período da "seca" 1988/1989 (Médias de 20 plantas).

Tratamentos	Inoc. comercial				Inoc. CNPBS				N mineral				Médias			
	15		45		15		45		15		45		15		45	
	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p
Xodó	18	21	13	22	16	25	13	18	9	9	5	4	14AB	18	10	15
22-34	14	18	18	19	33	34	16	19	3	2	3	1	16AB	18	12	13
CNF480	27	39	20	26	18	40	20	25	2	2	3	2	16AB	37	14	20
Negro Argel	37	42	17	24	32	45	19	25	2	2	5	4	24A	29	14	18
A222	13	20	12	16	18	31	13	24	4	4	2	2	11B	18	9	14
Médias	22A	28A	16A	21A	23A	35A	16A	24A	4B	4B	4b	3b	—	—	—	—
C.V. % a)	10	10	16	18												
b)	10	11	20	22												

Valores seguidos pelas mesmas letras maiúsculas (nº e peso nódulos aos 15 DAE) e minúsculas (nº e peso de nódulos aos 45 DAE) não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

teve nodulação superior à cultivar A222, enquanto que em relação às demais foi semelhante. Houve uma interação significativa no peso de nódulos secos/planta aos 45 DAE entre as cultivares Negro Argel e CNF480 com o inoculante CNPBS. Os maiores pesos de nódulos mostrados pelas duas cultivares na presença do inoculante CNPBS em relação às demais, foram devido aos seus maiores números de nódulos, o que demonstra uma certa especificidade (Quadro 1).

A produção de matéria seca e acúmulo de N total na parte aérea das plantas foi superior no tratamento N mineral quando comparado ao Inoculante Comercial em P. Modelo, enquanto que em Valença não houve diferenças entre os tratamentos para a matéria seca (Quadro 3). Portanto, não foi observado diferença entre N mineral e Inoculante CNPBS na produção de matéria seca em Parada Modelo, enquanto em Valença não houve diferença entre inoculantes e N mineral. Resultados semelhantes foram obtidos por Henson (10) no acúmulo de matéria seca em relação ao N mineral. Em relação ao acúmulo de N total na planta, o tratamento N mineral foi superior em relação aos demais tratamentos nas duas localidades. As cultivares de feijão mostraram comportamento semelhante na produção de matéria seca e N total da planta em ambas localidades.

Em relação ao acúmulo de N total nos grãos das cultivares, o tratamento N mineral mostrou-se superior aos inoculantes em ambos os locais. As cultivares de feijão "Xodó" e "CNF480" mostraram-se superiores no acúmulo de N nos grãos em relação à A222 em P. Modelo e Valença, respectivamente, enquanto que em relação às demais não mostraram diferenças significativas (Quadro 4).

Os tratamentos inoculados e N mineral não apresentaram diferenças significativas no peso de 1000 grãos em Valença, mas em P. Modelo, o N mineral superou os inoculantes, resultado também obtido por Fornasier Filho (8) com a aplicação de 45 kg/ha de N em doses parceladas. Em relação às cultivares, a "CNF480" teve maior tamanho de grãos em comparação com "Negro Argel" e "A222" em Valença, enquanto em P. Modelo mostrou-se superior a todas as cultivares (Quadro 5).

O índice de colheita dos tratamentos inoculados foi superior ao do N mineral nos dois locais. O tratamento N mineral proporcionou em ambos os locais maiores acúmulos de matéria seca e N total na parte aérea dos cultivares (Quadro 3). Isto se refletiu no menor índice de colheita ou seja na baixa eficiência do aproveitamento do N para maior produção de grãos (Quadro 5). Murata citado por Fornasier Filho (7) atribui ao excesso de fornecimento de N mineral a uma redução da translocação de amido para os grãos, já que esse assimilado seria exigido para sustentar o intenso crescimento vegetativo que ocorre. Assim, o acréscimo de partes vegetativas não corresponderia obrigatoriamente a um incremento proporcional da produtividade do feijoeiro. A cultivar CNF480 em Valença foi mais eficiente na conversão da matéria seca total na produção de grão, superando as cultivares A 222 e 2234. Em Valença não houve diferença entre as cultivares. Resultados semelhantes foram também obtidos por Hungria e Neves (13) e Duque *et al.* (6) trabalhando com outras cultivares de feijão

O tratamento N mineral foi o que produziu maior rendimento de grãos nos dois locais (Quadro 5), mostrando-se superior aos tratamentos inoculados assim como obtiveram Vargas (20) e Henson (10). As

Quadro 3. Peso de matéria seca da parte aérea (MSPA) e N total de MSPA (kg/ha) aos 45 DAE em P. Modelo (PM) e Valença (V) no período da "seca" 1988/1989 (Média de 20 plantas).

Tratamentos	Inoc. comercial				Inoc. CNPBS				N mineral				Médias			
	MSPA		NTOTAL		MSPA		NTOTAL		MSPA		NTOTAL		MSPA		NTOTAL	
	PM	V	PM	V	PM	V	PM	V	PM	V	PM	V	PM	V	PM	V
	(kg/ha)															
Xodó	2 511	760	59	17	3 371	892	75	21	3 767	1 091	116	28	3 239	925	84	22
22-34	2 379	628	48	17	2 578	760	74	21	3 239	859	69	27	2 743	760	64	21
CNF-480	1 983	793	46	18	2 478	1 124	63	28	3 437	1 124	113	29	2 611	1 024	74	25
N. Argel	2 016	727	48	18	3 272	595	76	14	3 272	1 256	137	34	2 842	859	87	22
A222	1 751	958	46	21	1 983	793	53	16	3 239	1 454	77	36	2 313	1 057	59	25
Médias	2 115B	760a	49B	18b	2 743AB	826B	68B	20ab	3 635A	1 157a	103A	31a	—	—	—	—
C. V. (%) a)	23	20	19	25												
b)	13	13														

Valores seguidos pelas mesmas letras maiúsculas (PM) e minúsculas (V) não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Quadro 4. N acumulado no grão (kg/ha) em P. Modelo (PM) e Valença (V) no período da seca 1988/1989 (Médias de 4 repetições).

Tratamentos	Inoc. comercial		Inoc. CNPBS		N mineral		Médias	
	PM	V	PM	V	PM	V	PM	V
Xodó	32	27	31	24	49	53	37A	35ab
22-34	19	25	23	29	47	60	30B	38ab
CNF480	26	35	24	29	32	56	27B	40a
Negro Argel	25	22	30	27	43	70	33AB	39ab
A222	27	29	28	30	37	35	31B	30b
Média	26B	28b	27B	27b	42A	55a	—	—
C.V. (%) a)	14	15						
	15	12						

Valores seguidos pelas mesmas letras maiúsculas (PM) e minúsculas (V) não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Quadro 5. Rendimento de grãos, peso de 1000 grãos e índice de colheita em P. Modelo (PM) e Valença (V) no período das "secas" 1988/1989 (Médias de 4 repetições).

Tratamentos	Inoc. comercial		Inoc. CNPBS		N mineral		Médias	
	PM	V	PM	V	PM	V	PM	V
Peso de 1000 grãos (g)								
Xodó	225	186	198	186	216	142	213BC	188ab
22-34	202	174	207	187	229	191	213BC	186ab
CNF480	266	185	250	192	282	208	266A	195a
Negro Argel	194	175	198	172	221	178	204C	175c
A222	219	171	224	178	247	179	230B	176c
Médias	221B	178	215B	183	239A	176	—	—
C.V. (%) a)	3	2						
	3	1						
Índice de colheita (kg grão/kg MS + kg grão)								
Xodó	0.47	0.75	0.46	0.53	0.40	0.50	0.44	0.59abc
22-34	0.32	0.55	0.37	0.56	0.37	0.48	0.35	0.53bc
CNF480	0.49	0.73	0.49	0.76	0.37	0.54	0.45	0.68a
Negro Argel	0.41	0.68	0.44	0.68	0.42	0.60	0.42	0.65ab
A222	0.46	0.60	0.45	0.64	0.35	0.47	0.42	0.57bc
Médias	0.46AB	0.66ab	0.44A	0.63a	0.38B	0.52b	—	—
C.V. (%) a)	7	6						
	5	4						
Rendimento de grãos (kg/ha)								
Xodó	981	905	782	935	1 536	1 222	1 100	1 021
22-34	894	540	929	668	1 610	1 223	1 144	811
CNF480	1 176	701	987	687	1 624	889	1 262	761
Negro Argel	715	689	874	749	1 777	1 112	1 122	850
A222	909	769	800	448	1 240	956	983	822
Médias	935B	722b	874B	757b	1 558A	1 080a		
C.V. (%) a)	14	19						
	12	15						

Valores seguidos pelas mesmas letras maiúsculas (PM) e minúsculas (V) não diferem entre si no nível de 5% pelo teste de Tukey.

médias de produtividades obtidas de 935 kg/ha e 876 kg/ha dos inoculantes comercial e CNPBS em P. Modelo e 722 kg/ha e 757 kg/ha em Valença respectivamente, ainda que abaixo daquelas obtidas com N mineral (1558 kg/ha e 1080 kg/ha) estão acima da média do Estado do Rio de Janeiro (672 kg/ha) (1). Isto já representa para os pequenos produtores desta região um ganho adicional de renda com pouco ou nenhum uso de fertilizante nitrogenado, apenas com a utilização da prática de inoculação.

Apesar da baixa nodulação das cultivares verificada em ambos locais, ainda ocorreu uma certa contribuição da fixação biológica de N₂ como fonte de N. Isto é mostrado pelos maiores índices de colheita obtidos com uso dos inoculantes em relação ao N mineral (5). Deve ser considerado também, que a população nativa de *Rhizobium* do solo, geralmente ineficiente, e o ataque de larvas de *Cerotoma* sp. aos nódulos, prejudicaram a simbiose, além do fato de que na época da "seca" as plantas apresentarem maior dependência de água disponível do solo.

A cultivar CNF 480, de modo geral, apresentou comportamento superior à cultivar A222 na grande maioria dos parâmetros analisados nos dois locais. Contudo em se tratando da nodulação, a cultivar N. Argel sobressaiu-se em relação a "A222" nos dois locais.

Por outro lado, a produção de matéria seca e N total das cultivares e tratamentos aos 45 DAE em P. Modelo foi em média, 2-4 vezes superiores àquelas obtidas em Valença (Quadro 3). Isto entretanto, não correspondeu a maiores diferenças nas produções de grãos das cultivares e tratamentos entre os dois locais (Quadro 5).

Desse modo, verificou-se menores índices de colheita tanto para cultivares como tratamentos em P. Modelo (Quadro 5). Parece que a correção da acidez e fertilidade do solo em Valença não foi eficiente para o crescimento da planta.

2. Época "das águas" de 1988/1989, em Nova Friburgo e Valença II: A nodulação inicial (15 DAE) mostrou diferenças significativas entre cultivares de feijão no número e peso de nódulos secos em N. Friburgo e somente no peso de nódulos secos em Valença (Quadros 6 e 7). Em Valença, a cultivar "CNF 480" mostrou uma maior nodulação em relação a 2234 aos 15 DAE e Xodó e A222 aos 45 DAE (Quadro 6). Em Nova Friburgo foi a cultivar N. Argel que mostrou superioridade na nodulação aos 15 DAE em relação às cultivares CNF 480 e A222 e ao 45 DAE somente no n° de nódulos às cultivares A222 e Carioca 80 (Quadro 7). Os tratamentos só mostraram diferenças em relação ao peso de nódulos secos em Valença, destacando-se o Inoculantes usados quando comparados com o N mineral. O peso de nódulos secos aos 45 DAE mostrou melhor desempenho em Nova Friburgo, cujas médias das cultivares e fontes de N atingiram mais de 75 mg de nódulos secos/planta, não diferindo estatisticamente entre si (Quadro 7).

Estes resultados estão de acordo àqueles obtidos por Pereira *et al.* (15). Houve um comportamento diferenciado das cultivares em função das condições de ambientes de cada local. Além disso, a adubação nitrogenada no solos de baixa fertilidade natural (Valença) reduziu a nodulação. Apesar da aplicação do calcário e do superfosfato simples, é possível que as estirpes de *Rhizobium* dos inoculantes tenham sido

Quadro 6. Número (n) e peso (p) de nódulos secos (mg) por planta aos 15 e 45 DAE em Valença na época das águas 1988/1989 (Médias de 20 plantas).

Tratamentos	Inoc. comercial				Inoc. CNPBS				N mineral				Médias			
	15		45		15		45		15		45		15		45	
	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p
Xodó	25	29	35	19	23	23	26	15	11	9	20	13	20	21AB	27bc	20b
22-34	26	22	53	29	22	19	24	20	23	15	24	13	24	19B	34abc	21ab
CNF480	45	43	53	39	44	49	65	47	18	22	19	15	36	38A	46a	34a
Negro Argel	33	39	38	34	30	41	44	33	20	13	25	15	28	31AB	36ab	27ab
A222	27	38	28	33	37	48	19	17	12	7	9	7	26	31AB	19c	19b
Carioca80	35	29	27	29	45	37	33	28	11	8	31	17	30	25AB	30abc	25ab
Médias	32	33AB	39a	31a	34	36A	35a	27a	16	13B	21b	13b	—	—	—	—
C.V. (%) a)	48	26	18	20												
b)	30	18	15	17												

Valores seguidos pelas mesmas letras maiúsculas (n° e peso aos 15DAE) e minúsculas (N° e peso aos 45 DAE) não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Quadro 7. Número (n) e peso (p) de nódulos secos (mg) por planta aos 15 e 45 DAE em N. Friburgo na época das águas 1988/1989 (Médias de 20 plantas).

Tratamentos	Inoc. comercial				Inoc. CNPBS				N mineral				Médias			
	15		45		15		45		15		45		15		45	
	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p
Xodó	9	5	26	86	15	10	43	83	12	6	44	76	12BC	7AB	38ab	82
22-34	14	7	45	121	15	7	33	73	13	6	42	115	14AB	7AB	43ab	103
CNF480	10	8	54	112	15	7	49	123	8	4	49	78	11BC	6B	51ab	104
Negro Argel	19	8	52	115	18	8	59	133	19	9	59	95	19A	10A	57a	114
A222	11	7	35	91	8	6	21	58	7	6	8	76	9C	6B	38b	75
Carioca 80	20	8	30	57	20	14	59	110	8	3	51	68	16AB	8AB	47ab	78
Médias	14	7	40	97	15	9	44	97	11	6	44	85	—	—	—	—
C.V. (%) a)	32	18	48	18												
b)	26	20	36	21												

Valores seguidos pelas mesmas letras maiúsculas (nº de peso aos 15 DAE) e minúsculas (nº e peso aos 45 DAE) não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

retardados no seu estabelecimento pela baixa fertilidade do solo. As médias de nodulação desse experimento na época da floração não chegaram sequer à metade das médias de Nova Friburgo.

O desenvolvimento vegetativo do feijoeiro, avaliado através do acúmulo de matéria seca da parte aérea aos 45 DAE, em ambos os locais, não mostraram diferenças para tratamentos e nem para cultivares usadas (Quadro 8). O fato das cultivares e dos tratamentos acumularem quantidades semelhantes de matéria seca em ambos locais, parece demonstrar que a correção da fertilidade do solo foi eficiente para o crescimento da planta. Entretanto, a eficiência produtiva das cultivares (índice de colheita), mostrou ser influenciada pelos genótipos e fontes de N (Quadro 8). Em Nova Friburgo, a cultivar CNF 480 foi superior às demais, ao passo que, em Valença destacou-se a Carioca 80 que não diferiu do Negro Argel (Quadro 8). Semelhante ao ocorrido na época da "seca", as cultivares de feijão de melhor nodulação mostraram maior eficiência de aproveitamento da matéria seca para a produção de grãos.

Na Quadro 8, observa-se uma maior produção de grãos das cultivares e dos tratamentos em Nova Friburgo quando comparado à Valença. Deve-se isto às melhores condições de ambiente, principalmente à fertilidade do solo, que proporcionou um melhor desempenho das cultivares. A adubação nitrogenada em Valença revelou maior rendimento de grãos em relação aos tratamentos inoculados, enquanto em Nova Friburgo não houve diferenças. Resultados semelhantes foram constatados por Duque *et al.* (6). Neste local, as cultivares CNF 480, 2234 e Xodó mostraram-se superiores na produção de grãos em relação à Carioca 80 e

Negro Argel, enquanto em Valença as cultivares tiveram comportamento semelhante. Estes resultados mostram que em condições favoráveis de clima e de fertilidade do solo (N. Friburgo), a prática da inoculação proporciona altas produções de grãos, semelhantes àquelas obtidas com o uso de 60 kg de N/ha. Já em solos de baixa fertilidade e, principalmente no período seco, apesar da correção da fertilidade (Valença e P. Modelo) a inoculação das sementes não foi tão eficiente quanto a adubação com N mineral.

Nas condições em que foi realizado o presente trabalho, as seguintes conclusões podem ser tiradas:

A nodulação foi mais influenciada pelas épocas de plantio e fertilidade do solo do que pelos inoculantes utilizados.

As cultivares N. Argel e CNF 480 mostraram uma maior nodulação, independentemente das épocas de plantio e locais.

As melhores nodulações das cultivares CNF 480 e N. Argel refletiram um maior índice de colheita, quando comparado com as demais cultivares.

A adubação nitrogenada mostrou-se mais eficiente em promover aumento na produção de matéria seca da parte aérea, N total na planta e no grão e produção de grãos das cultivares em P. Modelo e, em Valença nas duas épocas de plantio, quando comparado com a inoculação.

As cultivares de feijão CNF 480, 22-34 e Xodó destacaram-se das demais na produção de grãos em N. Friburgo.

Quadro 8. Peso da matéria seca da parte aérea (MSPA), rendimento de grãos e índice de colheita em N. Friburgo (NF) e Valença (V) no período das "águas" 1988/1989 (Médias de 4 repetições).

Tratamentos	Inoc. comercial		Inoc. CNPBS		N mineral		Médias	
	NF	V	NF	V	NF	V	NF	V
MSPA (kg/ha)								
Xodó	699	587	624	846	773	1 347	699	927
22-34	673	797	644	620	917	872	745	763
CNF480	816	641	771	2 383	890	1 380	826	1 468
Negro Argel	821	637	807	799	952	833	860	756
A222	757	557	734	1 077	919	1 213	803	949
Carioca 80	611	760	917	951	958	951	829	887
Médias	730	663	750	1 113	901	1 099	—	—
C.V. (%) a)	10	33						
b)	7	26						
Índice de colheita (kg grão/kg MS + kg grão)								
Xodó	0.52	0.52	0.47	0.53	0.46	0.52	0.49BCD	0.52cd
22-34	0.50	0.56	0.48	0.46	0.41	0.50	0.46CD	0.51d
CNF 480	0.67	0.60	0.65	0.59	0.59	0.52	0.64A	0.57bc
Negro Argel	0.45	0.57	0.39	0.60	0.42	0.58	0.42D	0.58ab
A222	0.52	0.51	0.51	0.54	0.53	0.49	0.52BC	0.51d
Carioca 80	0.61	0.64	0.55	0.65	0.48	0.62	0.55B	0.64a
Médias	0.55A	0.57	0.51A	0.56	0.48B	0.54	—	—
C.V. (%) a)	5	3						
b)	4	2						
Rendimentos de grãos (kg/ha)								
Xodó	1 702	606	1 756	722	1 712	1 112	1 739A	813
22-34	1 855	599	1 809	857	1 600	790	1 755A	749
CNF 480	2 403	603	2 012	551	2 007	908	2 141A	687
Negro Argel	1 415	556	783	616	923	724	1 040B	632
A222	1 430	487	1 430	583	1 671	656	1 510AB	575
Carioca 80	1 290	536	1 290	716	921	942	1 167B	731
Médias	1 683	565b	1 513	674b	1 480	855a	—	—
C.V. (%) a)	13	11						
b)	10	9						

Valores seguidos pelas mesmas letras maiúsculas (nº de peso aos 15 DAE) e minúsculas (nº e peso aos 45 DAE) não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

LITERATURA CITADA

- 1 ANUARIO ESTADÍSTICO do Brasil. 1988. Rio de Janeiro (Bra.), IBGE v. 48, p. 345.
- 2 BODDEY, L.H.; BARRADAS, C.A.A.; HUNGRIA, M. 1988. Seleção de cultivares de feijão e estirpes de *Rhizobium* para nodulação precoce, senescência tardia e maior eficiência de fixação de N₂. In Congresso e Feira Nacional de Biotecnologia (1., 1988, Rio de Janeiro, Bra.). Resumos Rio de Janeiro, Bra., FENABIO. p. 4-23.
- 3 CIAT (CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL). 1977. Programa de Frijol. Cali, Col., CIAT. B-92.
- 4 DOBEREINER, J.; DUQUE, F.F. 1980. Contribuição da pesquisa em fixação biológica do nitrogênio para o desenvolvimento do Brasil. Revista de Economia Rural (Bra.) 18:447-460.

5. DUQUE, F.F.; SALLES, L.I.G.; PEREIRA, J.C.; DOBEREINER, J. 1981. Influence of plant genotypes on some parameters of nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*: Biologic nitrogen fixation. Technology for Tropical Agriculture. Cali (Col.) p. 63-66
6. DUQUE, F.F.; NEVES, M.C.P.; FRANCO, A.A.; VICTORIA, R.L.; BODDEY, R.M. 1985. The response of field grown *Phaseolus vulgaris* to *Rhizobium* inoculation and the quantification of N₂ fixation using ¹⁵N. Plant and Soil (Holanda) 88:333-343
7. FORNASIERI FILHO, D.; VITTI, G.C.; MALHEIROS, E.B.; DECARO, S.; LAM-SANCHES, A. 1988. Efeito da inoculação associada à aplicação de micronutrientes e nitrogênio mineral na cultura do feijoeiro CV-"Carioca 80". Científica (Bra.) 16(2):197-207.
8. FORNASIERI FILHO, D.; BELLINGIERI, P.A.; VITTI, G.C.; MALHEIROS, E.B.; HORIZONTE, E.C. 1988. Efeitos da inoculação com *Rhizobium phaseoli*, de fertilizantes às sementes e nitrogênio mineral na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) CV "Carioca 80" das "aguas". Científica (Bra.) 16(2):229-238.
9. FRANCO, A.A.; DOBEREINER, J. 1967. Especificidade hospedeira na simbiose *Rhizobium*: Feijão e influência de diferentes nutrientes. Pesquisa Agropecuária Brasileira (Bra.) 2:467-474.
10. HENSON, R.A. 1986. Resposta do feijoeiro a inoculação e adubação nitrogenada. In Reunião Latino Americana sobre *Rhizobium* (12., 1984, Campinas, Bra.) Anais Campinas, Bra., IAC p. 346-353.
11. HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P.; SPRENT, J.I. 1984. Atividade da nitrogenase: Evolução do H₂ e transporte de nitrogênio em cinco cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. inoculadas com estirpes de diferentes eficiências na fixação do nitrogênio. In Reunião Latino Americana sobre *Rhizobium* (12., 1984, Campinas, Bra.) Anais Campinas, Bra., IAC. p. 563
12. HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P. 1986. Ontologia da fixação biológica de nitrogênio em *Phaseolus vulgaris* L. Pesquisa Agropecuária Brasileira (Bra.) 21(7):715-730
13. HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P. 1987. Cultivar and *Rhizobium* strain effect on nitrogen fixation and transport in *Phaseolus vulgaris* L. Plant and Soil (Holanda) 103:111-121.
14. HUNGRIA, M.; FRANCO, A.A. 1988. Nodule senescence in *Phaseolus vulgaris* L. Tropical Agriculture (Tri.) 65(4):341-346.
15. PEREIRA, P.A.A.; ARAUJO, R.S.; DA ROCHA, R.E.M.; STEINMETZ, S. 1984. Capacidade de genótipos de feijoeiro de fixar N₂ atmosférico. Pesquisa Agropecuária Brasileira (Bra.) 19(7):811-816
16. RUSCHEL, A.P.; VOSE, P.B.; MUTSUI, E.; VICTORIA, R.L.; SAITO, S.M.T. 1982. Field evaluation of N₂ fixation and N utilization by *Phaseolus* bean varieties determined by ¹⁵N isotope dilution. Plant and Soil (Holanda) 65:397-407.
17. SAITO, S.M.T. 1982. Avaliação em campo da capacidade de fixação simbiótica de estirpes de *Rhizobium phaseoli*. Pesquisa Agropecuária Brasileira (Bra.) 17(7):999-1006.
18. SAITO, S.M.T.; MARTINS, E.C.S. 1984. Avaliação da variedade de feijoeiro para fixação biológica de nitrogênio em campo. In Reunião Latino Americana sobre *Rhizobium* (12., 1984, Campinas, Bra.) Resumos Campinas (Bra.), Fundação Cargill. p. 155
19. SILVA, J.G. s f. Estudos sobre a inoculação de sementes de leguminosas realizado pelo Instituto Agronômico do estado de São Paulo.
20. VARGAS, A.A.I.; SILVEIRA, J.S.M.; PACOVA, B.E.V.; SANTOS, A.F. DOS 1983. Fixação simbiótica do nitrogênio no feijoeiro. IV. Inoculação com *Rhizobium phaseoli* na cultura Rio Tibagi no Espírito Santo. Cariacica (Bra.), EMCAPA. Comunicado Técnico no 19. 5 p.
21. WESTERMANN, D.F.; KLEINKOFF, G.E.; PORTIER, L.K.; LEGGET, G.E. 1980. Nitrogen sources for *Phaseolus vulgaris* L.: Seed production. USDA-SEA Agronomy Abstract 162

Influencia de la Temperatura en la Conservación *in vitro* de Germoplasma de *Musa*¹

C. Núñez P*, J. Sandoval**, L. E. Müller*

ABSTRACT

The behavior of five *Musa* cultivars: Caribe Morado (AAA), Gros Michel (AAA), Horn Plantain (AAB), Pelipita (ABB) and Saba (ABB) was studied, using *in vitro* techniques, in relation to the effect of a reduction of the incubation temperature. Treatments were: 14°C, 16°C, 18°C, 20°C, with 28°C as the control. The culture medium consisted of a Murashige and Skoog (M.S.) salt mixture and organics, with the addition of BA and 0.7% Difco Bacto-agar as the gelling agent. With temperature reduction a corresponding reduction of the development of the explants could be observed. Since at 14°C growth was minimal, it can be surmised that the zero growth temperature is close to 12°C. No significant differences among the different types of germplasm were apparent. After six months incubation plantlet regeneration was possible in all treatments.

COMPENDIO

Se estudió el comportamiento *in vitro* de cinco cultivares de *Musa*: Caribe Morado (AAA), Gros Michel (AAA), Curraré (AAB), Pelipita (AAB) y Saba (ABB), respecto al efecto de reducción de la temperatura durante la incubación. Se emplearon en los tratamientos las siguientes temperaturas: 14°C, 16°C, 18°C y 20°C y como testigo una a 28° centígrados. El medio de cultivo consistió en sales inorgánicas y orgánicas de Murashige y Skoog (M.S.) con adición de bencilaminopurina (BA), solidificado con 0.7% Difco Bacto-agar. La disminución de la temperatura provocó una reducción proporcional del desarrollo de los explantes. Puesto que a 14°C el crecimiento fue mínimo, la temperatura de cero crecimiento estaría alrededor de los 12° centígrados. No se encontraron diferencias significativas entre los tipos de germoplasma. Después de seis meses de incubación fue posible regenerar las plantas de todos los tratamientos.

Palabras clave: *Musa*, temperatura cero crecimiento, conservación de germoplasma.

INTRODUCCION

En los últimos años la conservación de los recursos fitogenéticos ha recibido mucha atención, pues las pérdidas de germoplasma son cada vez más altas debido a la destrucción de las áreas naturales y a la mayor utilización de variedades mejoradas (10). Esta erosión genética reduce en muchas especies cultivadas la disponibilidad de variabilidad genética, base de todo proceso de fitomejoramiento.

Para proteger los recursos fitogenéticos se han iniciado, en escala mundial, programas de conservación prioritarios. En el caso de plantas con semillas ortodoxas, la conservación puede efectuarse almacenando

las semillas en cámaras refrigeradas con temperatura y humedad relativa bajas, por períodos relativamente largos. Por tratarse de plantas con semillas recalcitrantes o de propagación asexual obligada, la única manera de cultivarlas en el campo es en forma de jardines clonales. En el caso de *Musa* solamente es posible la formación de un banco de germoplasma en esta forma. Puesto que estas colecciones están expuestas a plagas, enfermedades, problemas edáficos, climáticos y de espacio, es cada vez más difícil su manutención (10). En *Musa* son varias las enfermedades que pueden causar la pérdida de germoplasma valioso, como el Mal de Panamá, y que son casi imposibles de controlar.

Una alternativa es la conservación *in vitro* (12, 17, 24, 30, 34, 38). Las labores de mantenimiento son, en comparación con una colección viva en el campo, reducidas y más baratas. Además el espacio requerido es mucho menor y el material se conserva en estado aséptico, lo que facilita el intercambio de germoplasma (16, 27, 28, 29).

Existen varias formas de conservar el material vegetal *in vitro*. La más sencilla es mantener los cultivos en

1 Recibido para publicación el 20 de marzo de 1990. Los autores agradecen a la Agencia Internacional para el Desarrollo de los Estados Unidos de América (USAID) por la ayuda prestada para la ejecución de esta investigación con el Grant 936-5542, *Innovative Scientific Research*

* Centro Universitario del Atlántico, Universidad de Costa Rica (UCR).

** Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, C.R.

condiciones ambientales normales (1, 11, 13, 22, 31) o muy similares. Sin embargo, a esta temperatura, los explantes tienden a crecer mucho, por lo que se requieren frecuentes subcultivos. Por esa razón se ha tratado de mantener las colecciones *in vitro* en condiciones de crecimiento mínimo (6, 32), por lo que frecuentemente se ha reducido la temperatura (6, 14, 15, 19, 25, 36).

Temperaturas ultrabajas, como la del nitrógeno líquido, han sido también probadas en forma de criopreservación de germoplasma (3, 4, 5, 35, 37, 39). Sin embargo, este proceso todavía no es universalmente aplicable, debido a problemas de regeneración después de la descongelación, especialmente en especies tropicales (37, 38, 39).

Para reducir el crecimiento de material *in vitro* también se han empleado osmorreguladores, como sorbitol o manitol, para cambiar el potencial hídrico del medio de cultivo (18, 20, 23), retardadores químicos del crecimiento (20, 23, 26, 33), cambios en la presión de la atmósfera dentro del recipiente (8) y la cobertura del material con una capa de aceite mineral (2, 9).

En el presente trabajo se ha intentado determinar la temperatura de cero crecimiento para diferentes genótipos de *Musa*, para estudiar la posibilidad de conservar germoplasma a temperaturas por encima de este punto.

MATERIALES Y METODOS

Como material experimental se emplearon cinco cultivares de *Musa*: Caribe Morado (AAA), Gros Michel (AAA), Curraré (AAB), Pelipita (ABB) y Saba (ABB). El establecimiento de los tratamientos se comenzó con material previamente cultivado *in vitro* y multiplicado en un medio Murashige y Skoog (MS), que consistió en sales inorgánicas en forma de una mezcla comercial (KC Biological Inc., Lenexa, Kansas, EE.UU.), suplementada con sacarosa $30 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, mio-inositol $100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, ácido nicotínico $0.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, tiamina-HCl $0.1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, glicina $2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, Difco Bacto-agar $7 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, bencilaminopurina (BA) $4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, ajustada a un pH de 5.8 previo al proceso de esterilización.

Como explantes se utilizaron yemas adventicias vigorosas separadas de los precultivos a aproximadamente 10 mm de longitud y 5 mm de diámetro en la base, con un peso de 0.2 gramos. Los explantes fueron inoculados en un medio MS idéntico al anterior, con la excepción de $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ de BA. Como recipientes se emplearon tubos de vidrio con un diámetro de 2.5 cm, en cada uno de los cuales se colocó un explante. En

cada tratamiento se realizaron 20 repeticiones por cultivar. Los tubos se colocaron en incubadoras especiales Marca Percival, modelo I 35 LL, durante seis meses, a temperaturas de 14°C, 16°C, 18°C, 20°C y como testigo 28°C, con una oscilación de 0.5° centígrados. El fotoperíodo se ajustó a 16/8 h y la intensidad lumínica fue de 1.5001x en los cultivos, proporcionada por tubos fluorescentes de 40 W luz de día. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de variancia.

Al finalizar el período de experimentación se extrajeron las plántulas de los tubos y se cultivaron en un medio MS con adición de $0.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ de BA a 28°C 0.5° centígrados. Después de dos meses se evaluó la capacidad de recuperación mediante observaciones del crecimiento y de la formación de raíces.

RESULTADOS Y DISCUSION

En condiciones de temperatura relativamente alta (28°C) los explantes crecieron después de una fase inicial lenta, muy rápida y vigorosamente, y alcanzaron una altura (punta de la hoja más grande hasta la base del cormo) de 10 cm a 12 cm en dos meses. Después las plantas no desarrollaron mucho más, debido a la falta de espacio en el recipiente y al agotamiento de las reservas nutricionales en el medio. Al finalizar el tercer mes se habían tornado completamente cloróticas y comenzaron a marchitarse y secarse. Por esa razón los datos indicados en las figuras 1 y 2 para el testigo (28°C) representan apenas el crecimiento después de los primeros dos meses. En condiciones mejoradas su desarrollo hubiera sido mayor. En un experimento similar, El Gizawy y Ford-Lloyd (13) encontraron que plantas-testigo de ajo, mantenidas a una temperatura de 26°C, murieron ya después de cuatro meses. En ápices de manzano, Lundergan y Janick (19) verificaron el testigo a 26°C, y encontraron una reducción del 95% en la viabilidad después de nueve meses.

A una temperatura de 20°C, el desarrollo de los explantes, después de seis meses, fue muy positivo (Figuras 1 y 2). Se formaron entre cinco a seis hojas grandes y de apariencia normal. En todos los cultivares aparecieron numerosas raíces, provistas de pelos absorbentes. El seudotallo era grueso en su base y, apenas, algunas de las hojitas más viejas mostraron clorosis o se marchitaron. El cultivar Saba, que en todos los demás tratamientos mostró el menor crecimiento, tenía un peso excepcionalmente alto a 20°C, debido al mayor diámetro de la base del seudotallo.

En el tratamiento a 18°C se notó una reducción general del peso (Fig. 1) y del crecimiento longitudinal (Fig. 2). Se observó que los bananos con el genoma AAA mostraron un peso ligeramente superior, no sig-

nificativo, que los cultivares con el genoma AAB y ABB. A pesar del menor peso, el desarrollo de las plántulas fue completamente normal, con la formación de cuatro a cinco hojas y abundantes raíces en todos los cultivares.

y las hojas, a partir de los primordios existentes en los explantes, no formaron una lámina grande. Algunas veces sólo se formó el ápice, como inicio del desarrollo de la hoja. Las vainas más externas que mantenían encerrado al explante tenían una coloración verde-amarillenta. Sólo se formaron muy pocas raíces cortas en algunos de los explantes.

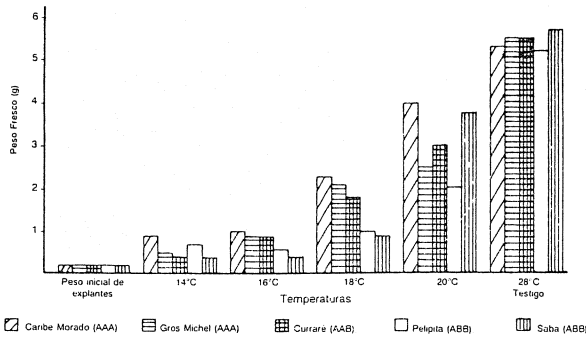


Fig. 1. Promedio de pesos de explantes de cinco cultivares de *Musa* después de seis meses de incubación *in vitro* en cuatro temperaturas diferentes.

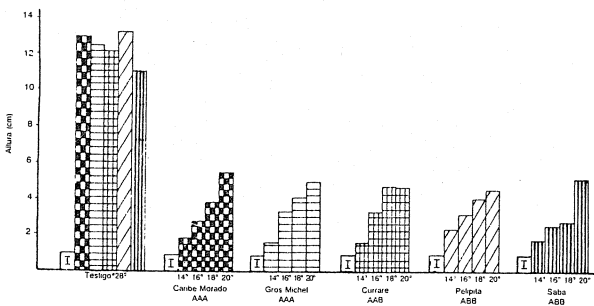
Nota: En el caso del testigo los datos son posteriores a los dos meses de incubación.

A menor temperatura, 16°C, se observó una mayor reducción en el desarrollo de los explantes. Esta fue proporcional en todos los cultivares y afectó tanto el peso como el crecimiento en altura (Figs. 1 y 2). Se formaron, apenas, dos o tres hojitas cuyas láminas permanecieron poco desarrolladas. Aparecieron raíces en todos los cultivares, pero en cantidad bastante reducida.

A una temperatura más baja, 14°C, casi no hubo crecimiento. El peso de los explantes apenas se duplicó

Al comparar el comportamiento de altura con el peso, se aprecia una correlación altamente significativa para los diferentes tratamientos. El análisis de variancia comprobó que no existían diferencias significativas en peso o altura entre los diferentes cultivares, pero sí entre todos los tratamientos. Sin embargo se puede observar en la Figura 1 que las pequeñas diferencias de peso entre cultivares fueron relativamente constantes en todos los tratamientos. Esto indica cierta respuesta diferencial, pues los tipos que contienen el genoma B fueron más afectados en su desarrollo que los bananos con solamente el genoma A por temperaturas bajas. Mientras que Miedema (21) no encontró diferencias en el comportamiento de diferentes genótipos de *Beta vulgaris* durante el almacenamiento a bajas temperaturas, Augereau *et al.* (2) informaron que las condiciones de almacenamiento en ambiente frío deberían ser muy diferentes para variedades de la misma especie.

Al proyectar la reducción del crecimiento con la disminución de la temperatura de almacenamiento se concluyó que posiblemente la temperatura de cero crecimiento se sitúa alrededor de 12°C, aunque, quizás en algunas variedades con solamente el genoma A (p.e. "Caribe Morado"), podría ser un poco más baja, o sea alrededor de 11° centígrados. Estas temperaturas son bastante más altas que las indicadas para muchas plantas de clima templado.



Leyenda: I= Tamaño inicial

Fig. 2. Efecto de cuatro temperaturas diferentes sobre el crecimiento longitudinal *in vitro* de cinco cultivares de *Musa* después de seis meses de incubación.

Nota: En el caso del testigo los datos son posteriores a los dos meses de incubación.

Banerjee y De Langhe (6) mencionaron que la mayoría de cultivos de ocho cultivares de *Musa*, mantenidos a 10°C por tres meses, se tornaron de color marrón y murieron, mientras que a 15°C todos se mantuvieron normales, aun después de 12 a 15 meses, con apenas poco ennegrecimiento.

El efecto de las temperaturas bajas durante la supervivencia se puede apreciar en el Cuadro 1. Se puede ver que después de seis meses de almacenamiento la tasa fue bastante alta en todos los tratamientos. Banerjee y De Langhe (6) reportaron que a 15°C la supervivencia de variedades con genoma B, comparada con la de aquellas que solamente tienen el genoma A, fue idéntica, pero después de nueve meses de almacenamiento se notó una reducción drástica en variedades que sólo contienen el genoma A.

Cuadro 1. Efecto de la temperatura de conservación *in vitro* para cinco cultivares de *Musa* en el porcentaje de supervivencia después de un período de incubación de seis meses.

Cultivar	Temperatura				
	14°C	16°C	18°C	20°C	28°C (testigo)
Caribe Morado	80	85	100	100	0
Gros Michel	85	75	100	100	0
Curraré	85	85	100	100	0
Pelipita	95	95	100	100	0
Saba	90	95	100	100	0

La regeneración de plántulas fue fácil una vez transferidos los explantes tratados a un medio MS nuevo con 0.5 mg BA, y mantenidos a una temperatura de 28° centígrados. Tampoco hubo ningún efecto sobre la capacidad de proliferación activa, a 28°C en un medio MS con 4 mg de BA. Sólo el testigo no sobrevivió el tiempo completo (seis meses), debido a los problemas antes mencionados.

Las reducciones observadas en la tasa de supervivencia, especialmente en los tratamientos con temperaturas más bajas, se deben exclusivamente a contaminaciones con hongos y bacterias (Cuadro 1). Este problema fue también encontrado por Bhojwani (7) en trébol, y por Dale (11) en *L. multiflorum*. Una tasa de supervivencia del 75% en *B. vulgaris* fue reportada por Miedema (21).

CONCLUSIONES

De los datos obtenidos en el presente estudio se puede concluir que el comportamiento de los diferentes cultivares (genótipos) de *Musa* fue bastante similar al disminuir la temperatura de almacenamiento y que, posiblemente, la de cero crecimiento se sitúa alrededor de 11°C a 12° centígrados. Puesto que la supervivencia y capacidad de regeneración fueron altas después de seis meses, es posible mantener colecciones de germoplasma de *Musa* a una temperatura de 16°C a 17°C durante un tiempo considerable, sin tener que efectuar subcultivos. No se sabe si el estrés impuesto por la reducción de temperatura tenga un efecto inductor en la variación somaclonal. El uso de osmorreguladores, en conjunto con las bajas temperaturas, quizá podría representar el sistema ideal para almacenar germoplasma de *Musa* a corto y mediano plazo.

LITERATURA CITADA

1. ALAN, J.J. 1979. Tissue culture storage of sweet potato germplasm. Ph.D. Thesis. Great Britain, University of Birmingham. 253 p.
2. AUGEREAU, J.M.; COURTOIS, D.; PETIARD, V. 1986. Long term storage of callus cultures at low temperatures or under mineral oil overlay. *Plant Cell Reports* 5:372-376.
3. BAJAJ, Y.P.S. 1976. Gene preservation through freeze-storage of plant cells, tissue and organ culture. *Acta Horticulturae* 63:75-84.
4. BAJAJ, Y.P.S. 1979. Establishment of germ plasm banks through freeze-storage of plant tissue culture and their implications in agriculture. In *Plant cell and tissue culture: Principles and applications* (W.R. Sharp, P.O. Larsen, E.F. Paddock, V. Raghavan (Eds.)). Columbus, Ohio University Press. p. 745-774.
5. BAJAJ, Y. 1979. Technology and perspective of cryopreservation of germplasm. *Euphytica* 28:267-285.
6. BANERJEE, N.; DE LANGHE, E. 1985. A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of *Musa* (banana and plantain). *Plant Cell Reports* 4:351-354.
7. BHOJWANI, S.S. 1981. A tissue culture method for propagation and low temperature storage of *Trifolium repens* genotypes. *Physiologia Plantarum* 52:187-190.
8. BRIDGEN, M.P.; SHARP, W.; STABY, G.L. 1978. Effects of low pressure on the preservation of tissue cultures of *Chrysanthemum morifolium*. *Calgary International Association of Plant Tissue Culture. Abstract* 1207. p. 106.
9. CAPLIN, S.M. 1959. Mineral-oil overlay for conservation of plant tissue cultures. *American Journal of Botany* 46:324-329.
10. CROP GENETIC resources for today and tomorrow. 1975. O.H. Frankel, J.G. Hawkes (Eds.). Cambridge, Cambridge University Press.
11. DALE, P. 1980. A method for *in vitro* storage of *Lolium multiflorum* Lam. *Annals of Botany* 45:497-502.
12. DE LANGHE, E. 1984. The role of *in vitro* technique in germplasm conservation. In *Crop genetic resources, conservation and evaluation*. J.H. Holden, J.T. Williams (Eds.). London, George Allen and Unwin. p. 131-137.
13. EL-GIZAWY, A.M.; FORD-LLOYD, B.V. 1987. An *in vitro* method for the conservation and storage of garlic (*Allium sativum*) germplasm. *Plant Cell. Tissue. Organ Culture* 9:147-150.
14. GALZY, R. 1969. Recherches sur la croissance de *Vitis rupestris* Scheele sains et court noué cultivé *in vitro* à différentes températures. *Annales de Phytopathologie* 1:149-166.
15. HIRAOKA, N.; KODOMA, T. 1984. Effects of non-frozen cold storage on the growth, organogenesis and secondary metabolism of callus culture. *Plant Cell, Tissue, Organ Culture* 3:349-357.

16. KAHN, R.P. 1986. Plant quarantine and international shipment of tissue culture plants. In Tissue culture as a plant production system for horticultural crops. R.H. Zimmerman, R.J. Griesbach, F.A. Hammerschlag, R.H. Lawson (Eds.). Dordrecht, Martinus Nijhoff Publ. p. 147-164.
17. KARTHA, K. 1981. Genepool conservation through tissue culture. In Symposium on Tissue Culture of Economically Important Plants. Proceedings COSTED and ANBS A. Rao (Ed.). University of Singapore. p. 213-218.
18. KIMBALL, S.L.; BEVERSDORF, W.A.; BIGHAM, E.I. 1975. Influence of osmotic potential on the growth and development of soybean tissue culture. *Crop Science* 15:750-753.
19. LUNDERGAN, C.; JANICK, J. 1979. Low temperature storage of *in vitro* apple shoots. *HortScience* 14:514.
20. MARETZKI, A.; THOM, M.; NICKELL, L.G. 1972. Influence of osmotic potentials on the growth and chemical composition of sugarcane cell culture. *Hawaiian Sugar Planters Record* 58(15):183-199.
21. MIEDEMA, P. 1982. A tissue culture technique for vegetative propagation and low temperature preservation of *Beta vulgaris*. *Euphytica* 31:635-643.
22. MIX, G. 1982. *In vitro* preservation of potato material. *Plant Genetic Resources Newsletter IBPGR (Roma)* 51:6-8.
23. MORA M., M.I. 1987. Uso de osmorreguladores e inhibidores químicos para la conservación del germoplasma *in vitro* de *Musa* sp. Tesis M. Sc. Turrialba, CATIE-Universidad de Costa Rica.
24. MOREL, G. 1975. Meristem culture techniques for the long-term storage of cultivated plants. In *Crop genetic resources for today and tomorrow*. O.H. Frankel, J.G. Hawkes (Eds.). Cambridge, Cambridge University Press. p. 327-332.
25. MULLIN, R.H.; SHLEGEL, D.E. 1976. Cold storage maintenance of strawberry meristem plantlets. *HortScience* 11(2):100-101.
26. MURASHIGE, I.; SKOOG, F. 1965. Effects of stem elongation retardants and gibberellin on callus growth and organ formation in tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 18:665-672.
27. PARLIMAN, B.J. 1986. Tissue culture techniques and plant introduction/quarantine procedures. In *Tissue culture as a plant production system for horticultural crops*. R.H. Zimmerman, R.J. Griesbach, F.A. Hammerschlag, R.H. Lawson (Eds.). Dordrecht, Martinus Nijhoff Publ. p. 271-282.
28. ROCA, W. 1979. Métodos de cultivo de tejidos para el intercambio internacional y la conservación del germoplasma de la yuca. *Boletín Informativo CIAT (Col.)* 6:3-5.
29. ROCA, W.M.; BRYAN, J.E.; ROCA, M.R. 1979. Tissue culture for the international transfer of potato genetic resources. *American Potato Journal* 56:1-10.
30. STARITSKY, G. 1980. *In vitro* storage of aroid germplasm. *Plant Genetic Resources Newsletter IBPGR (Roma)* 42:25-27.
31. WESTCOT, R.; HENSHAW, G.; ROCA, W. 1977. Tissue culture storage of potato germplasm: Culture initiation and plant regeneration. *Plant Science Letters* 9:309-315.
32. WESTCOT, R. 1981. Tissue culture storage of potato germplasm. I. Minimal growth storage. *Potato Research* 24:331-342.
33. WESTCOT, R. 1981. Tissue culture storage of potato germplasm. II. Use of growth retardants. *Potato Research* 24:343-352.
34. WILKINS, C.P.; BENGOCHEA, T.; DODDS, J.H. 1982. The use *in vitro* methods for plant genetic conservation. *Outlook on Agriculture* 11:67-72.
35. WITHERS, L.A. 1980. Low temperature storage of plant tissue cultures. In *Advances in biochemical engineering*. A. Fiechter (Ed.). Berlin, Springer. v.18, p. 102-150.
36. WITHERS, L.A. 1980. Cryopreservation of plant cell and tissue cultures. In *Tissue culture for plant pathologists*. D. Ingram, I. Helgeson (Eds.). Oxford, Blackwell.
37. WITHERS, L.A. 1980. The cryopreservation of higher plant tissue and cell cultures: An overview with some current observations and future thoughts. *Cryo-Letters* 1:239-250.
38. WITHERS, L.A. 1980. Tissue culture storage for genetic conservation. Roma, International Board of Plant Genetic Resources, IBPGR Secretariat. IBPGR/80/8.
39. WITHERS, L.A. 1981. Germplasm conservation *in vitro*: Present state of research and importance of cryopreservation. A technical report. Roma, International Board of Plant Genetic Resources (IBPGR). p. 6-10.

Effect of Extracts from *Bauhinia monandra*(Kurtz) Seeds on Cassava¹

Z. Russom*

ABSTRACT

Cassava stem cuttings were partially soaked in aerated and non-aerated aqueous extracts from the seeds of butterfly-flower (*Bauhinia monandra*(Kurtz)) and then planted in the field. Both seed coat and cotyledon extracts increased tuber yield, shoot weight and leaf number/plant. The aerated cotyledon extract increased the leaf content of N, Ca, K, Mn and Zn by 40.0%, 17.2%, 12.2%, 15.3% and 43.0% more than the control, respectively, while the seed coat extract increased N, Ca, Fe, Mn and Zn by 12.0%, 4.9%, 5.1%, 8.4% and 44.0% more than the control, respectively. Both extracts increased K, Mn and Zn in the tubers, but reduced cyanide content by 43.0-46.0%.

COMPENDIO

Se sembraron esquejes de tallo de mandioca, luego de ser sumergidos parcialmente en un extracto gaseoso y en uno acuoso no gaseoso de semillas de *Bauhinia monandra* (Kurtz). El extracto de cáscara de semilla y de los cotiledones aumentó la producción de ese tubérculo, el peso de los retoños y el número de hojas por planta. El extracto gaseoso del cotiledón elevó el contenido de N, Ca, K, Mn y Zn en las hojas en un 40.0%, 17.2%, 12.2%, 15.3% y 43.0%, respectivamente, más que del control; mientras que el extracto de la cáscara de semilla lo hizo en un 12.0%, 4.9%, 5.1%, 8.4% y 44.0%, respectivamente más que del control. Ambos incrementaron el contenido de K, Mn y Zn en los tubérculos, pero redujeron el de cianita en un 43.0% a un 46 por ciento.

INTRODUCTION

Extracts were collected from numerous and different wild plants in southern Nigeria and tested for their effect on cultivated crops. Aqueous extracts from the seeds of butterfly-flower (*B. monandra* (Kurtz)) increased leaf size and grain number/cob in maize (8). The same extracts also increased pod number/plant, seed size and induced profuse nodulation in groundnut plants (9).

These extracts were not tested previously on tuber crops. Thus, the objective of this paper was to study the effect of the extracts from the seeds of butterfly-flower on cassava plants.

MATERIALS AND METHODS

The experiments were carried out in May 1985-March 1986 and in May 1986-April 1987 at the University of Port Harcourt farm, Rivers State, Nigeria.

Ripe and dry pods of butterfly-flower were first harvested. The seeds were then removed from the pods and each seed was separated into its seed coat and cotyledon.

Water was used as an extraction medium. The water was first distilled using a double distiller and then sterilized by boiling.

The following treatments were then tested for the 1985-1986 experiment:

- (a) Three grams of the seed coat was soaked in 1 l of the sterile distilled water and the container housing the soaked seed coats was left exposed to the air for 60 h;
- (b) the same as in (a) except that the container was kept airtight;
- (c) three grams of the cotyledon was soaked in 1 l of the sterile distilled water and the container housing the soaked cotyledon was left exposed to the air for 60 h;
- (d) the same as in (c) except that the container housing the soaked cotyledon was kept airtight;

¹ Received for publication 9 October 1990.

* Institute of Agricultural Research and Development, University of Port Harcourt, P.O. Box 105, Port Harcourt, Nigeria.

- (e) only sterile distilled water was used; and
- (f) control stems were not treated at all with any type of solution.

The solutions in extracts (a) to (d) were filtered using Nylon cloth after 60 h of soaking. This was meant to remove intact tissues of the seed coat, cotyledon and any fibrous material.

Commonly grown local cassava variety, called "Nwacha" was used. The cuttings (30 cm long) were partially soaked in the extract by placing the older portion of the stem in the solution for 96 hours. The soaked and the control (soaked and unsoaked) were then planted in the field in May 1985 at 1 m x 1 m spacing and harvested in March 1986. A randomized complete block design with five replications was used and there were 6 rows of 15 plants in each replication. This number may be low, but a minimum of 16 and a maximum of 32 plants are needed to give a reliable estimate of tuber yield in cassava (10). Data for treatments (e) and (f) were combined because there was no significant difference between them.

Weight of tuber and shoot were recorded from each plant during harvest, while leaf number/plant was recorded about two weeks earlier.

In the 1986-1987 experiment, only the aerated extracts, treatments (a), (c) and (f), were used. However, preparation of the extracts, amount of the extracts, length of cuttings, duration of soaking the cuttings and spacings used remained the same as in the 1985-1986 experiment. The variety used was TMS 30572. It was obtained from the International Institute of Tropical Agriculture(IITA), Ibadan, Nigeria.

The cuttings were planted in May 1986 and harvested in April 1987. There were two rows of eight plants for each treatment/replication. A complete randomized block design with eight replications was used.

Weight of tubers and shoots, leaf number/plant, cyanide content in tubers and nutrient content of the tubers and leaves were recorded. Leaf number/plant was recorded two weeks before harvest. The leaves' nutrient content was measured when plants were eight months old. The remaining characters were recorded during harvest.

To determine nutrient content of the leaves, one leaf of similar size was picked from each plant. Leaves from replication one to four were bulked as one sample

and leaves from replication five to eight were bulked as a second sample. Dried plant samples were then analyzed for N (Micro-Kjeldhal method), P (Vanadomolybdate) and for Mg, Mn, Cu, Ca, K, Fe and Zn (atomic absorption spectrometry).

To determine cyanide content, a similar procedure was used, except that there was only one bulked sample/treatment. Cyanide content was determined using the procedure of Rao and Hahn (7). Both cyanide and the nutrient contents were analyzed at the IITA, Ibadan, Nigeria.

RESULTS AND DISCUSSION

The 1985-1986 results are presented in Table 1. All extracts significantly (P) increased tuber yield, shoot weight and leaf number/plant. But plants treated with the cotyledon extract had higher values than those plants treated with the seed coat extract. The aerated extracts appear to be more effective than the non-aerated extracts in increasing tuber yield, shoot weight and leaf number.

Table 1. Effect of aerated and non-aerated extracts from the seed-coat and from cotyledon of *B. monandra* on tuber yield, shoot weight and leaf number/plant of cassava plants (1985-1986 experiment, variety 'Nwacha').

Extract	Tuber yield (t/ha)	Shoot weight (t/ha)	Leaf number/plant
Seed-coat (non-aerated)	26.8	9.4	449.6
Seed-coat (aerated)	28.6	9.3	525.8
Cotyledon (non-aerated)	42.4	21.3	583.0
Cotyledon (aerated)	47.8	16.1	643.9
Control	23.5	7.0	305.6
LSD (P=0.05)	3.01	2.01	61.82

The 1986-1987 results are given in Table 2. The results are very similar to those of 1985-1986. Again the effect of the cotyledon extract was much more pronounced than the effect of the seed-coat extract.

There seems to be a positive relationship between leaf number/plant and tuber yield (Tables 1 and 2). This is in agreement with the findings of IITA (4).

Table 2. Effect of aerated seed-coat and aerated cotyledon extracts from *B. monandra* on tuber yield, shoot weight and leaf number/plant of cassava plants (1986-1987 experiment, variety TMS 30572).

Extract	Tuber yield (t/ha)	Shoot weight (t/ha)	Leaf number/plant
Cotyledon (aerated)	45.1	19.8	1 133.6
Seed-coat (aerated)	27.3	10.6	723.0
Control	20.4	10.6	694.0
LSD (P=0.05)	3.77	0.78	97.43

It must be noted (Tables 1 and 2) that the shoot weight (t/ha) is less than the actual value; it was difficult to assess the total weight of leaves produced since there was leaf fall throughout the growing period.

The aerated cotyledon extract increased leaf content of N, Ca, K, Mn and Zn by 40%, 17.1%, 12.2%, 15.3% and 43.0% more than the control, respectively (Table 3). Similarly, the seed coat extract increased leaf content of N, Ca, Fe, Mn and Zn by 12.0%, 4.9%, 5.1%, 8.4% and 44.0%, respectively (Table 3). It is clearly seen that the cotyledon extract increased K, but the seed-coat extract decreased it.

Both the aerated seed-coat and aerated cotyledon extracts increased the amount of K, Mn and Zn (and P, slightly) in the tubers, but both extracts decreased N, Mg and Fe. K showed the highest concentration in the tubers and the second-highest in the leaves. This was true in all treatments (Table 3), and agreed with the view that cassava has a high K requirement (6).

The reason for the high tuber yield in the extract-treated plants (Tables 1 and 2) was probably due to an

increase in nutrient content of the cassava plants as shown in Table 3. This is likely because IITA (4) reported that N and K increased root initiation, tuber size and root number in TMS 30572. Also, Howeler and Onwueme (3, 5) reported that N and K are the most important elements in increasing tuber yield of cassava.

Furthermore, an increase in Zn produced by both extracts and in both the roots and leaves of the cassava plants is of special significance. This is so because cassava is particularly susceptible to Zn deficiency and it is the most important micro-nutrient that limits tuber yield in cassava (3, 5). Howeler (3) reported that Zn deficiency have been observed in both acid and alkaline soils throughout the world.

The amount of cyanide in the control, seed-coat treated and in the cotyledon-treated tubers were: 13.47 mg, 7.26 mg and 7.64 mg of HCN/100 g of dry weight, respectively. Such a reduction in cyanide, as a result of treating the stems with extracts, is very desirable.

This is so because the presence of poisonous cyanogenic glucoside (HCN) in the tubers has, to some extent, limited its use in human diets as well as in livestock rations.

The active substances in the butterfly-flower seeds are still unknown. Bidwell (1) reported that Zn is directly involved in the synthesis of indole acetic acid. Whether the high amount of Zn (43%-44% more than the control) in the cassava leaves (Table 3) suggests the presence of a hormone related to IAA is unknown. As far as we know, no study has been carried out on the effects of butterfly-flower seed extracts on the growth of plants.

From the stem of *B. variegata*, Gupta, Vidyapati and Chauhan (2) isolated 5.7 dimethoxy 4-hydroxy flavanone for the first time from a natural source. They did not apply this compound on plants.

Table 3. Effect of aerated cotyledon and aerated seed-coat extracts from *B. monandra* on nutrient content of leaves and tubers of cassava plants (Second (1986-1987) experiment, Variety 'TMS 30572').

Extract	N	P	Ca	Mg	K	Mn	Fe	Cu	Zn
	Dry matter (%)				(Ppm)				
Cotyledon	3.5(0.10)	0.25(0.27)	1.43(0.12)	0.30(0.11)	1.75(0.81)	116.9(8.6)	120.1(1.4)	11.8(1.4)	71.5(7.2)
Seed-coat	2.8(0.14)	0.26(0.13)	1.28(0.15)	0.32(0.08)	1.48(0.87)	109.9(21.9)	150.2(16.1)	12.4(2.9)	72.0(11.7)
Control	2.5(0.16)	0.27(0.12)	1.22(0.13)	0.31(0.14)	1.56(0.60)	101.4(5.7)	142.9(18.6)	12.8(1.4)	50.0(4.3)

Numbers in parentheses are for nutrient content of tubers. The cotyledon and seed coat extracts were both aerated.

LITERATURE CITED

1. BIDWELL, R.G.S. 1979. Plant physiology. New York, McMillan. 596 p.
2. GUPTA, A.K.; VIDYAPATHI, T.J.; CHAUHAN, J.S. 1980. Chemical examination of the stem of *Bauhinia variegata*. *Planta Medica* 38:174-176.
3. HOWELER, R.H. 1980. Soil-related cultural practices for cassava. In *Cassava cultural practices* (Salvador, Bahia, Bra., 1980). Proceedings. E.J. Weber, J.C. Toro, M. Graham (Eds.). Ottawa, Can., International Development Research Centre. p. 59-69.
4. IITA (INTERNATIONAL INSTITUTE OF TROPICAL AGRICULTURE). 1982. Annual Report of the International Institute of Tropical Agriculture for 1982. Ibadan, Nigeria. p. 91-93.
5. ONWUEME, I.C. 1982. Tropical tuber crops. Chichester, John Wiley. 234 p.
6. PHILLIPS, T.A. 1964. An agricultural note book. Longman, Nigeria. 252 p.
7. RAO, P.V.; HAHN, S.K. 1984. An automated enzymatic assay for determining the cyanide content of cassava (*Manihot esculenta*) and cassava products. *Journal of the Science of Food and Agriculture (U.K.)* 35:426-436.
8. RUSSOM, Z. s.f. Effect of aqueous extracts of *Bauhinia monandra* seeds on leaf size, internode length and grain number of maize. *Oyton* 47:83-87.
9. RUSSOM, Z. 1990. A short note on the effect of aqueous extracts from the seeds of *Bauhinia monandra* (Kurz) on groundnut. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 60(12):818-820.
10. THOMPSON, R.C.; WHOLLY, O.W. s.f. A guide for cassava field trials. Cali, Col. CIAT. 68 p.

RESEÑA DE LIBROS

BRIDGES, E.M. 1990. Soil horizon designations. Wageningen, The Netherlands, International Soil Reference and Information Centre (ISRIC). Technical Paper no. 9. 111 p.

Hace varios años reseñé el libro titulado Suelos del Mundo (Turrialba 29(4):332) escrito por el profesor E.M. Bridges, estudioso inglés de gran experiencia. Hoy, me ocupa un segundo texto del mismo autor, titulado Nomenclatura de los Horizontes del Suelo, que resume los diferentes sistemas empleados en el mundo sobre el tema.

El libro está escrito en términos sencillos y cubre, en varios capítulos, de manera histórica y pedagógica el conocimiento disponible sobre el tema. Describe la forma en que se usa la designación de horizontes, cómo reconocerlos (a través de propiedades como profundidad, color, entre otros), su génesis y nomenclatura de horizontes de diagnóstico. Al final presenta cinco estrategias para abordar el tema del documento en el

futuro y el consenso alcanzado por el ISRIC en 1987, así como algunas conclusiones del autor.

Por lo conciso, puede emplearse como texto de referencia en los capítulos iniciales de los cursos sobre suelos en posgrado y como obra de consulta en los trabajos de correlación de suelos. En general, la edición es excelente, sin embargo, hay que alertar al lector sobre la inversión de títulos en las figuras 4a y 4b.

A pesar de ser un documento reciente, no se discuten en él los conceptos de propiedades ándicas y vítricas, esenciales en la definición de andisoles, ni los problemas de la morfología de horizontes derivados del uso de suelos en arroz anegado. El libro puede adquirirse escribiendo el ISRIC, P.O. Box 353, 6700 AJ Wageningen, The Netherlands (ISBN 90-6672-041-7).

ALFREDO ALVARADO H.
CENTRO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SAN JOSE, COSTA RICA

Características de Tres Suelos Tropicales sobre Caliza bajo Selva en Chiapas, México¹

A. Campos,* D. Dubroeuq*

ABSTRACT

Field observation and analytical results about three tropical soils beneath rain forest of Chiapas (Mexico) over the same calcareous rock but in two topographic situations, reveal three different evolutions of an old and thick clayey ferrallitic material originated from the intense weathering of the calcic basement. The evolution varies with the forest type and the climate conditions. At 1100 m altitude, beneath a pine-tree forest in a constantly humid climate, the organic topsoil shows a moderate but significant cations reserve and a loss of aluminium. Beneath an evergreen forest in the same conditions the soil shows a high cation desaturation and exchangeable aluminium. At a lower altitude (900 m) in a warmer climate, the soil presents a higher cation exchange capacity and higher contents in ferric and aluminous oxides. Due to a severe mineral deficiency and aluminium toxicity of the soil, Chiapas' forest conservation with control for a sustained timber production is recommended.

Key words: Rain forest, exchangeable aluminium, total phosphorus.

COMPENDIO

El análisis de tres suelos tropicales bajo selva, sobre roca caliza, en Chiapas (Méx.), pero en dos escalones topográficos diferentes, revela tres evoluciones de los suelos a partir de un mismo material arcilloso ferralítico profundo, proveniente de la alteración de la caliza. Cada evolución se debe a un definido tipo de selva y de clima. A una altitud de 1100 m, con un clima permanentemente húmedo bajo el bosque de pinos, se observa una reserva de bases en la capa orgánica y la desaparición del exceso de aluminio, mientras que en el mismo ambiente, bajo la selva perennifolia, se mantiene una fuerte desaturación en bases y cantidades elevadas de aluminio intercambiable. En la zona baja (900 m) más cálida, el suelo presenta mayor capacidad de intercambio catiónico, así como importantes cantidades de óxidos de hierro y aluminio. Debido a las deficiencias minerales y a la toxicidad por el aluminio en los suelos, se recomienda conservar la selva natural de Chiapas y controlar la explotación de la madera.

Palabras claves: Selva perennifolia, Al intercambiable, fósforo total.

INTRODUCCION

Los suelos del trópico húmedo, por su exuberante vegetación (selva alta perennifolia), poseen en apariencia una alta fertilidad. Pero el conocimiento fundamental y práctico de los suelos tropicales revela que no poseen las condiciones requeridas para una producción agrícola.

El principal problema de manejo de los terrenos de la selva tropical radica en la baja fertilidad natural del substrato: pH ácido, contenidos de materia orgánica importantes bajo selva pero no bajo cultivo, niveles altos en aluminio intercambiable y bajos en calcio, magnesio y potasio (7). Su composición mineralógica está dominada por arcillas de baja actividad y una fuerte proporción de óxidos de hierro y aluminio (8). Además

estos suelos tienen la habilidad de retener el fósforo en formas poco solubles ligadas a los óxidos de hierro y aluminio, lo que disminuye el efecto de los fertilizantes fosforados.

Estudios de los suelos tropicales (5) demuestran que las prácticas de sustitución de la vegetación natural por cultivos incrementan la insolación, la temperatura del aire y la del suelo, y disminuyen la humedad global del suelo. Estos cambios pueden perturbar el equilibrio químico y orientar nuevas transformaciones en los minerales.

El presente estudio no pretende analizar de manera exhaustiva todos los componentes químicos y minerales de los suelos tropicales sobre caliza en la región de Chiapas, pero sí indicar cuáles son las principales características que determinan el grado de fertilidad de estos suelos y que pueden orientar las decisiones relacionadas con la conservación del suelo con su cubierta selvática, o con la desforestación para fines de cultivo y de ganadería.

¹ Recibido para publicación el 6 de febrero de 1991.

* Instituto de Ecología, A. C., apartado postal no. 63. 91000 Xalapa, Veracruz, Méx.

Medio físico

El área del estudio se ubica en la parte norte de la reserva de la Biosfera de Montes Azules, Chiapas, Méx., en un transecto de 10 km de largo entre el Plan de Ayutla y la Laguna Ocotal (Fig. 1). El substrato geológico está constituido por una caliza del Cretáceo superior, en estratos fuertemente plegados. La precipitación anual suma 3939 mm y la temperatura media anual es de 23° centígrados.

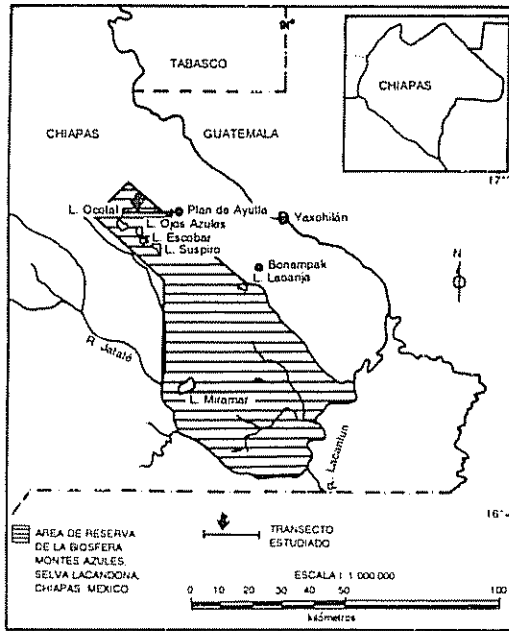


Fig. 1. Localización del transecto Plan de Ayutla-Laguna Ocotal, Chiapas, Méx

El corte topográfico del transecto (Fig. 2) despliega cuatro dominios diferentes de vegetación que corresponden a cuatro segmentos topográficos:

Segmento 1: Nivel superior, altitud 1100 m, microrrelieve suavemente ondulado con desniveles de tres a cinco metros, interrumpido por depresiones cársticas (dolinas) ocupadas por lagunas. Predomina un bosque de pinos (*Pinus oocarpa*) asociados con encinos (*Quercus corrugata*, *Q. skinnerii*).

Segmento 2: Nivel superior, altitud 1100 m, microrrelieve ondulado con desniveles de cinco a diez metros, inclinados según el buzamiento de los estratos. Selva alta perennifolia (*Ceiba pentandra*, *Dialium guineense*), asociada con encinos.

Segmento 3: Escarpe con pendiente suave desde 1100 m hasta 950 m de altitud, microrrelieve cárstico con numerosos afloramientos rocosos, selva alta perennifolia (*Terminalia amazonica*, *Swietenia macrophylla*) con muchos árboles derribados.

Segmento 4: Nivel inferior, altitud 900 m, microrrelieve casi plano, vegetación de selva alta, sustituida en más de la mitad de la superficie por cultivos de café y maíz. Algunos árboles como cubierta de sombra (*Inga leptoloba*, *Manilkara zapota*).

- | | |
|--------------------------------|---------------------------------------|
| 1 <i>Terminalia amazonia</i> | 9. <i>Dialium guineense</i> |
| 2 <i>Manilkara zapota</i> | 10 <i>Ceiba pentandra</i> |
| 3 <i>Inga leptoloba</i> | 11 <i>Bursera simaruba</i> |
| 4 <i>I. supindioides</i> | 12 <i>Stemmadenia doneli-amithi</i> |
| 5 <i>Trema micrantha</i> | 13 <i>Quararibea funebris</i> |
| 6 <i>Colfea arabica</i> | 14 <i>Chamaedorea ernesti-augusti</i> |
| 7 <i>Swietenia macrophylla</i> | 15 <i>Ch. elegans</i> |
| 8 <i>Brosimum alicastrum</i> | 16 <i>Quercus sp.</i> |
| | 17. <i>Pinus sp.</i> |

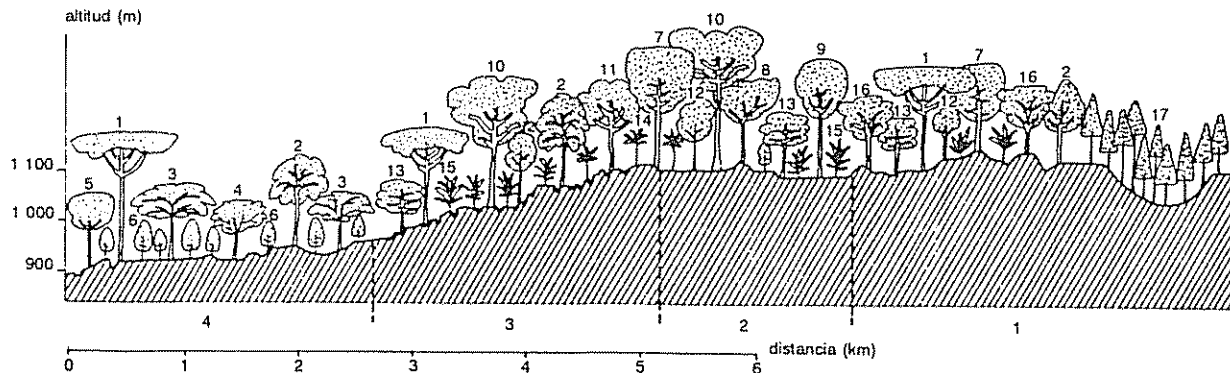


Fig. 2. Corte topográfico con vegetación.

MATERIALES Y METODOS

Se seleccionaron tres perfiles representativos del suelo de los segmentos 1, 2 y 4 (Fig. 3). En el segmento 3, el suelo se reduce a rendzinas de menos de 50 cm de espesor y no fue muestreado.

A continuación sigue una breve descripción de los suelos:

Suelo pardo (segmento 1)

- 0-30 cm: Negro, limo-arcilloso, grumoso muy friable, con materia orgánica abundante, ligada a la fracción mineral.
- 30-44 cm: Pardo oscuro (7.5YR3/4), arcilloso, estructura subangular, friable.
- 44-77 cm: Pardo rojizo oscuro (5YR3/4), arcilloso, poliédrico, escasas concreciones.
- 77-170 cm: Rojo oscuro (10R3/4), arcilloso, poliédrico fino, abundantes concreciones, pocas manchas ocres.

Suelo amarillo (segmento 2)

- 0-14 cm: Pardo oscuro, hojarasca con fragmentos de ramillas.

- 14-45 cm: Pardo amarillento (10YR 3/6), arcilloso-limoso, con materia orgánica no discernible, estructura granular, muy friable.
- 45-100 cm: Amarillo (10YR6/8), arcilloso, estructura granular, muy friable.
- 100-150 cm: Amarillo, arcilloso, estructura subangular, friable.

Suelo rojo (segmento 4)

- 0-18 cm: Pardo oscuro (7.5YR3/4), arcilloso, estructura granular, con materia orgánica ligada a la fracción mineral.
- 18-42 cm: Pardo oscuro, arcilloso, estructura subangular.
- 42-100 cm: Amarillo rojizo (7.5YR6/8), arcilloso, pegajoso, poliédrico, agregados con caras lisas, manchas de color rojo oscuro (10R3/6), estructura poliédrica con revestimientos de arcilla.

Las muestras de suelo fueron secadas al aire y tamizadas a dos milímetros. En cada perfil de suelo se efectuaron los siguientes análisis (6):

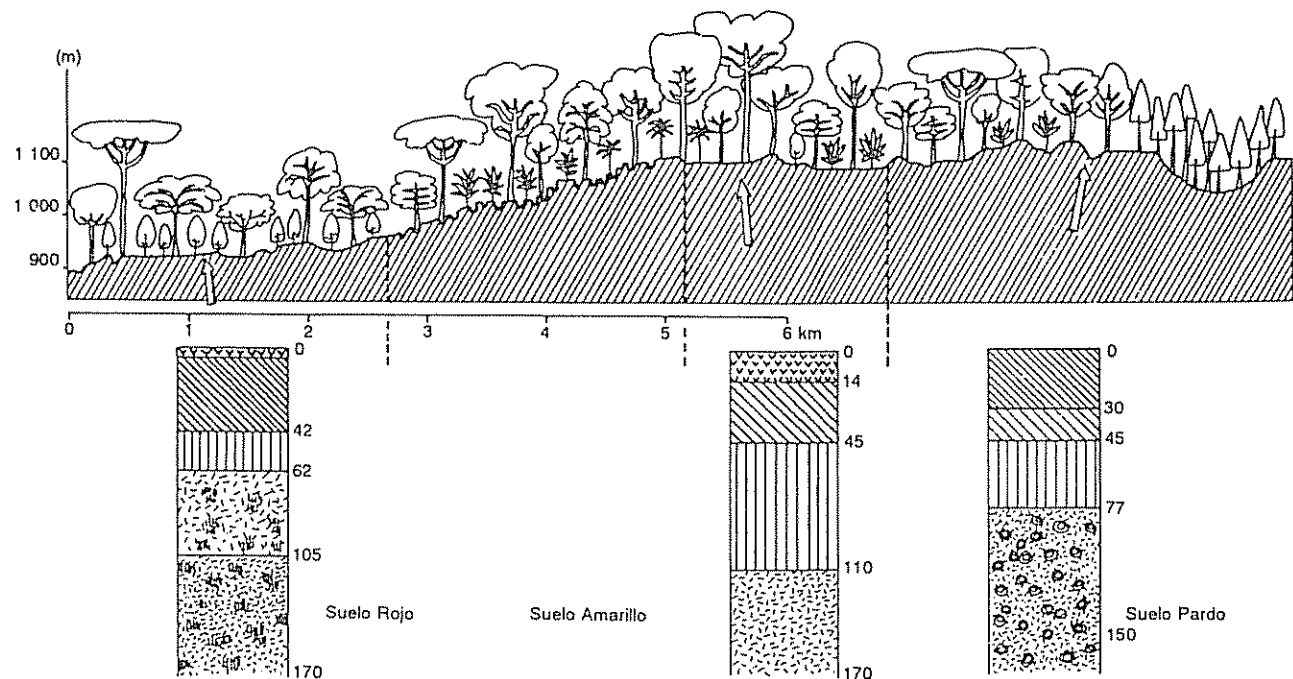


Fig. 3. Corte topográfico de los suelos

- Textura por densimetría en cuatro fracciones (inf. 0.002 mm, 0.002-0.02 mm, 0.02-0.05 mm, 0.05-2 mm) y dispersión con el hexametáfosfato de sodio.
- Bases intercambiables con extracción NH₄OAc.
- Aluminio intercambiable con extracción KCl N, 30 milímetros.
- Elementos totales Si, Al, Fe, con digestión en medio triácido.
- Hierro, aluminio y silicio extractables con el oxalato de amonio en medio ácido (Tamm), selectivo para formas hidratadas y no cristalizadas.
- Fósforo total con digestión en ácido nítrico y determinación por colorimetría.
- Retención de fósforo mediante aplicación de dosis crecientes y cuantificación con el método Bray después de un período de 10 días.

RESULTADOS

Textura

Exceptuando a las rendzinas de la zona de transición, en donde permanecen fragmentos rocosos de caliza, la meteorización produce de modo abrupto un suelo casi enteramente arcilloso con 70% a 90% de arcilla (Fig. 4). Sin embargo, los suelos amarillo y pardo, ubicados en el nivel altitudinal superior más húmedo, muestran un mayor contenido en elementos residuales arenosos (Cuadro 1).

Oxidos

El contenido total de óxidos (hierro y aluminio) es muy elevado y alcanza el 40% del peso de la tierra fina (Cuadro 2). El hierro se mantiene constante alrededor del 10% (Fig. 5), con valores más elevados en el suelo rojo. Se compone en su mayoría de formas cristalizadas, así como lo indican los valores muy bajos de hierro extractable con el oxalato de 0.2% a 0.7% en Fe₂O₃ (Cuadro 2). Estas formas constituyen pseudopartículas en los limos y arenas de la textura.

Cuadro 1. Datos físicos de los suelos pardo, amarillo y rojo sobre caliza bajo suelo en Chiapas (Méx.).

Profundidad (cm)	M.O. (%)	Arena (%)	Limo g. (%)	Limo f. (%)	Arcilla (%)
Suelo pardo					
0-30	11.2	28.0	31.0	10.5	30.5
30-44	5.53	21.0	20.0	11.0	48.0
44-77	0.78	22.0	8.5	8.5	61.0
77-170	0.24	17.0	10.0	6.5	66.5
Suelo amarillo					
0-14	18.0	—	—	—	—
14-45	3.21	31.5	19.5	7.0	42.0
45-100	1.28	26.0	14.0	7.5	52.5
100-150	0.76	14.0	12.0	4.0	70.0
Suelo rojo					
0-18	3.41	19.0	21.0	4.0	56.0
18-42	1.22	8.5	7.0	1.0	83.5
42-100	0.47	4.0	4.0	0.8	91.2
100-160	0.20	5.0	1.25	0	93.7

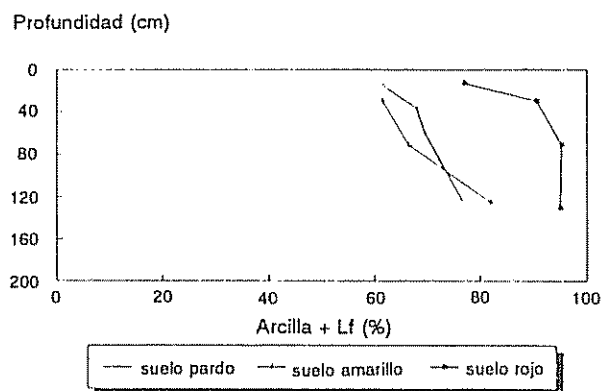


Fig. 4 Fracción fina de los suelos (arcilla y limo fino, 0 - 0.02 mm)

En términos generales, el aluminio es un constituyente de las arcillas y forma el 30% en Al_2O_3 de la fracción fina. Este valor aparece de modo constante a partir de 120 cm de profundidad y luego decrece en los horizontes orgánicos superficiales (Fig. 5). Sin embargo, en el suelo pardo se observa una fuerte

disminución del aluminio total arriba de 80 cm de profundidad, lo que significa un cambio en la constitución mineralógica del suelo.

Coefficiente SiO_2/Al_2O_3

La relación molecular SiO_2/Al_2O_3 permite evaluar la composición mineralógica de los suelos, comparándola con aquella de la caolinita que presenta un coeficiente de 2. Se constató que abajo de 100 cm de profundidad los tres suelos presentan un coeficiente SiO_2/Al_2O_3 inferior a 2 (Fig. 6), en vez de 2, que requieren las arcillas de tipo caolinita.

En esas condiciones, el aluminio se encuentra en exceso en comparación con el silicio. Las formas amorfas o hidratadas del aluminio extraídas por el oxalato son escasas (Cuadro 2).

Entonces, en estos suelos el aluminio debe encontrarse en formas cristalizadas y también en formas intercambiables. Pero al contrario de los suelos amarillo y rojo, en el suelo pardo, bajo bosque de pinos con

Cuadro 2. Contenidos en óxidos triácido (%) y oxalato de los suelos pardo, amarillo y rojo sobre caliza bajo suelo en Chiapas (Méx.).

Profundidad (cm)	Óxidos triácido (%)			Óxidos oxalato (%)		
	Fe ₂ O ₃	Al ₂ O ₃	SiO ₂	Fe ₂ O ₃	Al ₂ O ₃	SiO ₂
Suelo pardo						
0-30	05.96	15.65	45.11	00.20	00.60	00.11
30-44	06.43	17.19	50.07	—	—	—
44-77	08.26	12.20	45.85	00.57	00.70	00.11
77-170	08.40	29.56	42.89	00.57	00.75	00.23
Suelo amarillo						
14-45	09.65	19.32	46.59	00.78	01.02	00.04
45-100	08.97	24.90	45.22	00.21	00.66	00.06
100-150	11.74	27.20	39.05	00.78	01.66	00.11
Suelo rojo						
0-18	11.98	26.69	46.76	00.64	00.87	00.06
18-42	10.47	30.16	34.43	00.28	00.64	00.13
42-100	—	—	—	00.28	00.64	00.11
100-160	10.37	30.47	36.13	00.21	00.72	00.19

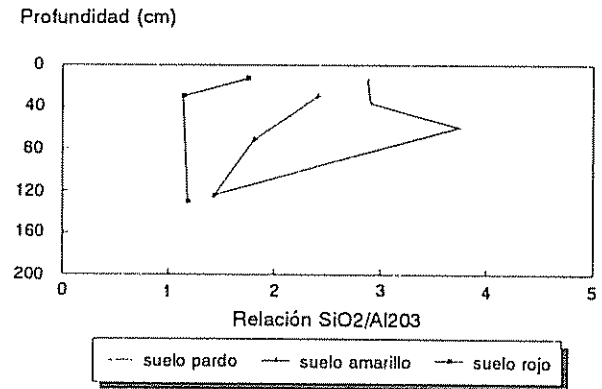
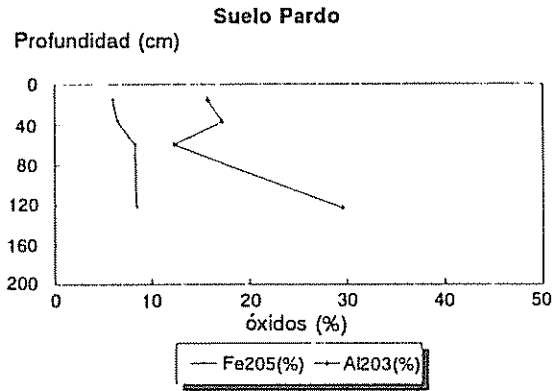
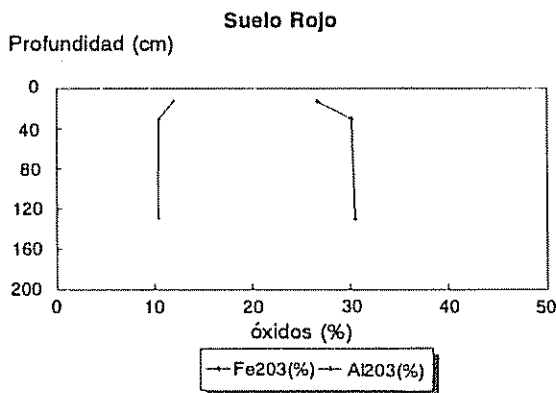
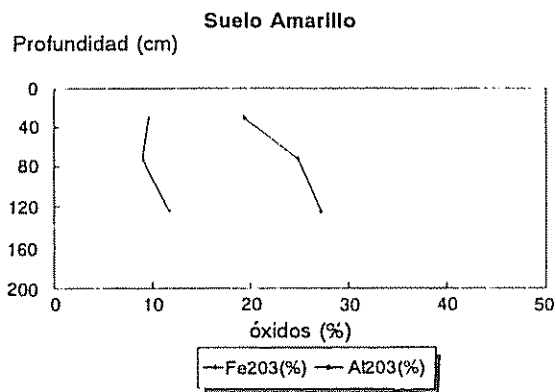
Fig. 6 Variación del coeficiente SiO₂/Al₂O₃ en los suelos

Fig. 5 Contenido de óxidos de Fe y Al en los suelos

afinidades de zona templada, arriba de 80 cm, se presenta una deficiencia de aluminio en comparación con la caolinita, lo que sugiere la presencia de un tipo diferente de arcilla, probablemente un mineral más rico en SiO₂ y de baja actividad (vermiculita).

Bases intercambiables

Los suelos amarillo y rojo tienen el mayor contenido de aluminio intercambiable, que alcanza en el caso del suelo amarillo más del doble de las otras bases (Fig. 7). En aquellos dos suelos, el aluminio intercambiable llega a niveles tóxicos para la mayoría de los cultivos. El suelo pardo no presenta ninguna toxicidad por el aluminio, excepto en la parte profunda del perfil (Cuadro 3).

En general, la reserva mineral se mantiene muy baja, alrededor de 2 mEq/100 g, por causa de arcillas de baja actividad en un ambiente tropical húmedo. Pero se observan (Fig. 7) dos variaciones sobre el tema: el suelo pardo bajo bosque de pinos presenta una mayor cantidad de bases (5.5 mEq/100 g) en la capa superficial, donde se acumula la materia orgánica; y el suelo rojo bajo bosque tropical sustituido por el café presenta una mayor saturación en bases con una mayor capacidad de intercambio (Cuadro 3). La evolución del suelo pardo resulta de una descomposición más lenta de la materia orgánica, lo que facilita su acumulación, tal como se observa en la hojarasca de pinos.

La evolución del suelo rojo se debe a una menor lixiviación de las bases, que ocurre en condiciones climáticas tropicales con menos precipitaciones o también más cálidas o de mayor evaporación. En suelos similares de Cuba, se reportó el aumento del porcentaje de saturación y la disminución del aluminio intercambiable en relación con un clima tropical con estación seca y cálida (2). El aumento de la capacidad de intercambio catiónico es un efecto de las arcillas de moderada actividad, pero con la misma composición mineralógica que la caolinita, es decir arcillas 1/1, probablemente de tipo metahalosita. Datos similares fueron encontrados en suelos de Guatemala, en la región del Petén, donde se identificaron metahalositas (1).

Cuadro 3. Datos químicos de los suelos pardo, amarillo y rojo sobre caliza bajo suelo en Chiapas (Méx.).

Profundidad (cm)	pH H ₂ O	Elementos int. mEq/100 g					CIC efectiva mEq/100 g	p total (ppm)
		Ca	Mg	Na	K	Al		
Suelo pardo								
0-30	5.20	3.20	1.92	0.12	0.18	0.58	6.54	613
30-44	5.15	1.20	0.56	0.14	0.06	—	—	—
44-77	5.35	0.64	0.16	0.14	0.02	0.52	1.82	156
77-170	5.60	0.88	0.32	0.14	0.05	1.18	2.93	276
Suelo amarillo								
0-14	4.35	5.76	1.52	0.24	0.41	—	—	—
14-45	4.95	0.80	0.50	0.17	0.06	2.17	3.84	236
45-100	5.10	0.88	0.32	0.14	0.04	2.65	4.41	187
100-150	5.15	0.72	0.24	0.12	0.07	3.31	4.80	189
Suelo rojo								
0-18	5.80	10.0	2.72	0.12	0.28	0.10	13.31	427
18-42	5.35	6.72	2.16	0.17	0.19	0.21	9.53	250
42-100	5.20	3.76	1.36	0.14	0.19	3.23	8.68	170
100-160	5.30	3.20	1.52	0.14	0.19	2.32	7.83	—

Fósforo

Las curvas de retención de fósforo (Fig. 8) se relacionan con las del aluminio intercambiable. En el suelo pardo y en el suelo amarillo se observa una leve disponibilidad de fósforo, una vez que se neutraliza el aluminio intercambiable (1.2 mEq/100 g) con 1500 ppm de fósforo adicional. El suelo rojo en su parte superior no muestra aluminio intercambiable y el fósforo se libera rápidamente arriba de 500 ppm adicionales, pero no logra neutralizar las cantidades de aluminio (3.2 mEq/100 g) existentes en la parte inferior del suelo (Fig. 8).

Cabe mencionar que el fosfato de aluminio es más soluble que el de hierro a pH ácido y todavía más que el fosfato de calcio completamente insoluble en medio ácido (3). Esto explicaría la fuerte retención de fósforo en la parte inferior del suelo rojo, que contiene más hierro y calcio disponibles para formar fosfatos, en comparación con los dos otros suelos, en los cuales solamente el aluminio está disponible.

CONCLUSIONES

Los tres suelos presentan características similares: arcillas de baja o moderada actividad, exceso de aluminio, pobreza en bases y acidez. Traducen una evolución de tipo ferralítico en un material profundo y arcilloso, proveniente de la meteorización de las calizas. Tal grado de alteración, por su espesor y su intensidad, no puede haberse iniciado en el Holoceno, sino desde tiempos remotos. Actualmente se diferencian tres evoluciones, entre las cuales dos pertenecen a zonas de altitud y una a zonas más bajas y cálidas (Fig. 2).

En las zonas de altitud con humedad permanente se diversifica la cubierta vegetal entre dos extremos: un bosque de pinos con caracteres de zona templada y una selva tropical alta perennifolia. En cada extremo, se observa una evolución diferente del suelo: bajo el bosque de pinos, a favor de una hojarasca con descomposición lenta, se observa la formación de horizontes orgánicos espesos que mantienen una cierta reserva de bases. Este medio orienta la evolución mineralógica superficial hacia una deficiencia en

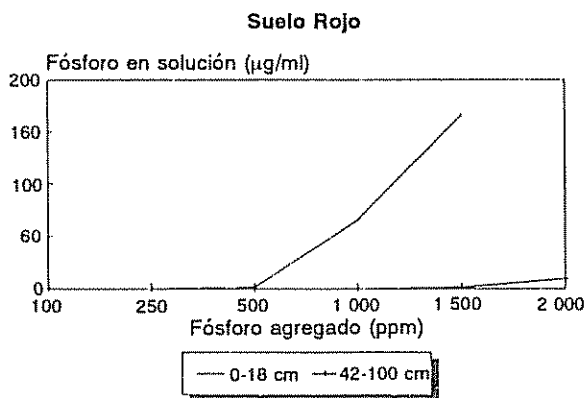
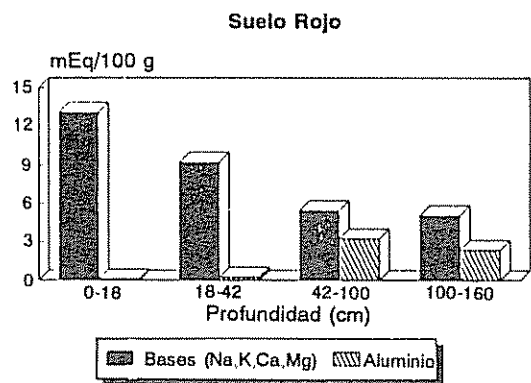
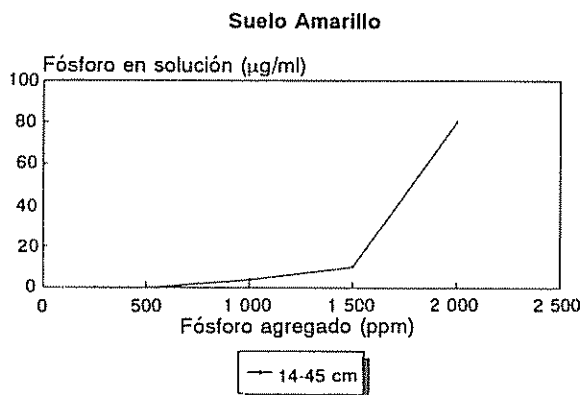
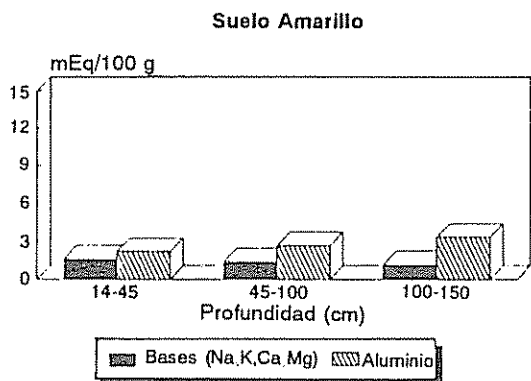
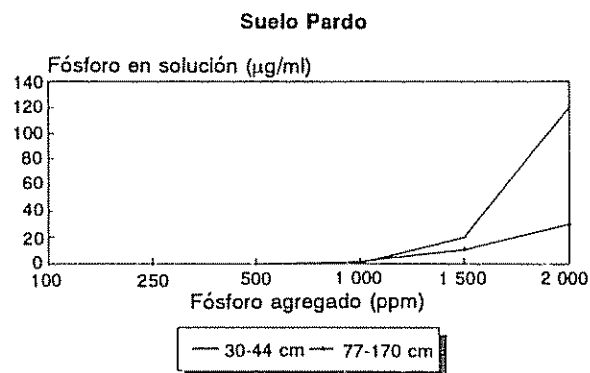
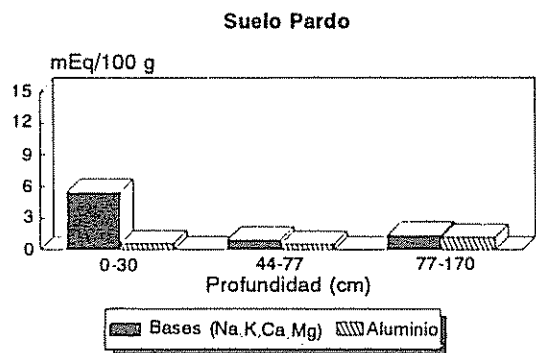


Fig. 7. Contenidos de bases intercambiables

Fig. 8. Retención de fósforo en los suelos.

aluminio y la presencia de arcillas probablemente de tipo vermiculita. Bajo la selva perennifolia se observa una rápida descomposición de la materia orgánica, una intensa lixiviación de las bases y correlativamente altos contenidos de aluminio intercambiable. La evolución mineralógica se orienta hacia la permanencia de arcillas ricas en aluminio y de baja actividad, tales como la caolinita.

En la zona baja y más cálida, el suelo presenta una evolución diferente, que se distingue por un mayor contenido general en bases, una acumulación incipiente de óxidos cristalizados de hierro y aluminio y un equilibrio mineralógico con arcilla rica en aluminio, pero de moderada actividad, probablemente metahalóisita. Esta evolución traduce la influencia de un cambio climático de tropical siempre húmedo a tropical con

estación seca. En la profundidad del suelo reaparecen los rasgos del suelo ferralítico inicial, es decir, arcillas de baja actividad, desaturación y aumento en aluminio intercambiable.

Tales suelos no se lograrían cultivar sin inversiones muy costosas. El primer obstáculo radica en los altos niveles de aluminio intercambiable, tóxicos para la mayoría de los cultivos. El aluminio tiende a acumularse en las raíces formando sitios muertos y engrosamientos, impidiendo la absorción y el traslado del calcio y del fósforo a la parte aérea (7).

El segundo obstáculo aparece en los suelos al sustituir la selva por cultivos de poca biomasa aérea. Bajo selva las reservas de nutrientes se localizan en los horizontes orgánicos (ejemplos del suelo pardo y del suelo amarillo) y se mantienen a través de un ciclo de degradación biológica de la materia orgánica bruta suministrada por la biomasa vegetal viva. Al destruirse la selva se rompe el ciclo y se observa una disminución de la capa orgánica y una acidificación del suelo, debido a la lixiviación acelerada de los nutrientes, ya no reciclados por la alfombra de raíces del bosque (4).

El tercer obstáculo ha sido claramente evaluado anteriormente: se trata de la deficiencia de fósforo y la imposibilidad de corregirla con fertilizantes. Esta carencia se añade al desequilibrio mineral en potasio observado en los análisis (Cuadro 3).

El cuarto obstáculo es la erosión, como consecuencia a largo plazo de los efectos de la radiación solar y la de la desecación sobre el suelo, desprovisto de su cobertura arbórea natural. Los óxidos de hierro componen 10% de la fracción fina del suelo y los de aluminio entran como componente mayor de la fracción mineral. Cuando se deshidrata el suelo, la cristalización de los óxidos se acentúa hasta modificar las características físicas del material. La susceptibilidad a la erosión aumenta, generalmente eviden-

ciada a su inicio por la formación de un horizonte superior cluviado sin consistencia y de color claro.

En consecuencia, frente a las perspectivas de una muy baja rentabilidad agrícola, estas tierras tendrían un mejor aprovechamiento si se conserva la vegetación selvática y se explota la madera de manera controlada.

LITERATURA CITADA

1. BAK, H. 1977. Estudio de reconocimiento de suelos. Yachilan, Petén, Gua.
2. BOSCH, D.; CAMACHO, E.; SEGALÉN, P. 1983. Etude de quelques sols de Cuba et en particulier de sols ferrallitiques. 2. Les sols ferrallitiques typiques rouges dans les plaines des parties centrale et occidentale de Cuba. Cahiers ORSTOM: Série Pédologie (Francia) 19(3):205-219.
3. DABIN, B. 1985. Les sols tropicaux acides. Cahiers ORSTOM: Série Pédologie (Francia) 21(1):7-19.
4. KANG, B. I.; FOX, R. L. 1981. Management of the soils for continuous production: Controlling the nutrient status. In Characterization of soils. Oxford University Press.
5. LAI, R. 1981. Management of the soils for continuous production: Controlling erosion and maintaining physical condition. In Characterization of soils. Oxford University Press.
6. METHODS OF soil analysis. 1982. II. Chemical and microbiological properties. 2 ed. A. L. Page (Ed). Madison, Wis., ASA, SSSA. Agronomy Series no. 9.
7. SANCHEZ, P. A. 1981. Soil management in the oxisol savannahs and ultisol jungles of tropical South America. In Characterization of soils. Oxford University Press.
8. UEHARA, G.; KENG, J. 1975. Management implications of soil mineralogy in Latin America. In Soil management in tropical America. Raleigh, North Carolina State University.

Interacción Hormiga-Polinizador en Cacao¹

W. Goitia*, C. Bosque*, K. Jaffe*

ABSTRACT

More than 40 ant species were found distributed in patches on *Theobroma cacao* trees in cultivated and in wild cocoa in Venezuela. *Azteca foreli* and *Wasmania auropunctata* were found covering 80% of the plants in commercial plantations, but were absent on wild growing cocoa in the Venezuelan Amazon. The presence of these ants had no effect on the survival of flower buds, pollinated flowers and fruits, but *A. foreli* reduced significantly (over 42%) the number of pollinated flowers compared to flowers on branches of the same trees where ants had been excluded; whereas *W. auropunctata* increased by 46% the number of flowers pollinated, suggesting that ants interact with the pollinators and/or pollinate the flowers. Thus, management of ant populations, excluding *A. foreli* from the trees, should be explored as a possibly useful device in increasing cocoa production.

COMPENDIO

Se encontraron más de 40 especies diferentes de hormigas distribuidas en parches sobre árboles de *Theobroma cacao* cultivados y salvajes, en Venezuela. *Azteca foreli* y *Wasmania auropunctata* cubrían el 80% de las plantas en las plantaciones y estaban ausentes en el cacao de crecimiento espontáneo en la Amazonia venezolana. La presencia de estas hormigas no tenía ningún efecto sobre la supervivencia de los botones florales, flores polinizadas o frutos, pero *A. foreli* reducía significativamente en más del 42% el número de flores polinizadas en comparación con troncos del mismo árbol donde las hormigas habían sido excluidas, mientras que *W. auropunctata* incrementaba en un 46% el número de flores polinizadas, lo que sugiere que estas hormigas interactúan con los polinizadores o polinizan las flores. Por ello, el manejo de poblaciones de hormigas, excluyendo a especies de *A. foreli* de las plantas, debería explorarse como un método para incrementar la producción de cacao.

INTRODUCCION

Aunque existe poca evidencia directa, la función que con mayor frecuencia se les atribuye a las hormigas es la de defender las plantas contra insectos herbívoros y otros parásitos, pues ellas son coloniales y, generalmente, agresivas cerca de su sitio de anidación (4). En el caso de *Theobroma cacao* en la región de Barlovento, Miranda, Ven., se encontró que existe un nivel de asociación casi obligatorio entre plantas de cacao y colonias de hormigas, especialmente del género *Azteca*, las cuales excluyen a las otras especies de insectos de su territorio (13). Ello hace que ciertas especies de hormigas puedan ser utilizadas como agentes de control biológico.

La existencia de especies de hormigas dominantes provoca una distribución espacial, en forma de parches o mosaicos, en las plantaciones de cacao y que la mayoría de los árboles son forrajeados por al menos una de las especies de hormigas dominantes. A lo largo del día son muchos los árboles que sufren la acción de las hormigas (4, 18, 20).

Soetardi (30) recolectó insectos visitantes de la flor de *T. cacao*, e identificó 30 especies, de las cuales 12 (40%) eran dípteros. Dentro de este grupo, las del género *Forcipomya* se encontraron con mayor frecuencia (36%). Sin embargo, Soetardi capturó siete obreras de especies de hormigas (23.3%), cargando polen sobre flores.

Las flores tienen una conformación morfológica que dificulta el acceso de los insectos caminadores a sus partes internas (8, 9). Por ejemplo, la flor de *T. cacao* tiene tricomas y glándulas que segregan sustancias de recompensa para los polinizadores (35) que podrían ser atractivas para las hormigas. Sin embargo, las hormigas, a pesar de estar siempre presentes y ser numéricamente dominantes en el ecosistema de las selvas tropicales, se encuentran con poca frecuencia en el interior de las flores (14, 17).

¹ Recibido para publicación el 3 de mayo de 1991. Los autores agradecen al FONAIAP-Estación Experimental Miranda la valiosa ayuda prestada, en especial a los ingenieros Pedro Sánchez y Cirilo Girón.

* Departamento de Biología de Organismos, Universidad Simón Bolívar, Apartado 89000, Caracas 1080, Ven

En el presente trabajo se estudian las interacciones entre las especies de hormigas dominantes en plantación de *T. cacao* y las flores, y su influencia en los niveles de polinización.

MATERIALES Y METODOS

Lugares de trabajo

Los ensayos se realizaron en los campos experimentales del Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (FONAIAP)-Estación Experimental Miranda (Caucagua y Padrón) en Barlovento, Miranda, una de las principales zonas cacaoteras de Venezuela entre enero y diciembre de 1989. En la primera estación se trabajó intensivamente sobre una parcela con 208 árboles dispuestos en hileras y separados 3 m x 3 m en un área total de 3060 m². Las plantas de *T. cacao* no fueron tratadas con insecticidas, por lo menos, cinco meses antes del experimento.

Se recolectaron hormigas que se encontraban sobre árboles de crecimiento espontáneo de *T. cacao*, en diferentes localidades del Territorio Federal Amazonas: Toki, Wasiña, Coyowateri y Cacuri. Las primeras dos regiones estaban relativamente más intervenidas en comparación con Cacuri, pues en ellas habitan indígenas de la etnia Yecuana, que siembran cacao, mientras que en Coyowateri los Yanomami no siembran cacao, pero sí lo consumen.

Distribución espacial de hormigas

Para determinar el número de especies de hormigas, presentes sobre las plantas de *T. cacao*, su abundancia y el posible dominio de algunas de ellas, se recolectaron todas las que se encontraban en las plantas, utilizando el método de recolección directa (25). Las diferentes especies recogidas se colocaron en frascos con alcohol al 70%, identificando la planta de procedencia para su posterior reconocimiento en el laboratorio.

Observación de las interacciones hormiga-flor

Para determinar si existían especies de hormigas que interactúan con las flores, se observaron 534 flores en las primeras horas de la mañana (6:30 a.m. a 8:30 a.m.). La mitad de ellas fueron dobladas con ayuda de un alfiler, de tal forma que sus partes distales (sépalos, pétalos, estaminodios y ovario) tuvieran contacto con la corteza del árbol. Al comparar la presencia de las hormigas en estas flores con aquellas sin ninguna inter-

ferencia, se pudo establecer si el pedicelo representa un obstáculo en el acceso de las hormigas a las partes distales. Se realizaron, cada 10 min, tres series de observaciones de 2 min anotando la presencia o la ausencia de hormigas y homópteros en las flores, y las partes florales sobre las cuales se encontraban.

En otro ensayo se determinó la interacción que tenían las especies de hormigas con el pedicelo, colocando éste sobre el camino de las hormigas más abundantes (*A. foreli* y *W. auropunctata*). Se esperaron 5 min antes de hacer las anotaciones. Las observaciones se realizaron en la mañana (8:00 a.m. a 10:00 a.m.). Se anotó el tipo de comportamiento observado y su frecuencia. Como control se utilizó un trozo de nervadura de la hoja seca de la planta de aproximadamente el mismo diámetro y largo del pedicelo. Los controles se realizaron 10 min después del ensayo con el pedicelo cerca del lugar donde se había colocado.

Para determinar si los tricomas glandulares ubicados en el pedicelo floral eran comidos o no por insectos (caminadores o voladores), se realizó el siguiente ensayo: de las ramas previamente excluidas de hormigas, según el procedimiento descrito más abajo para los experimentos de polinización, y de ramas no excluidas de hormigas, se recolectaron flores con sus pedicelos una semana o más después del tratamiento. A cada flor se le contaron los tricomas glandulares en un área de 1 milímetro cuadrado.

Grado de polinización

Este ensayo tuvo como objetivo determinar la posible influencia de las hormigas sobre el grado de polinización de las plantas de *T. cacao*.

Se trabajó con plantas autocompatibles; fueron escogidos aquellos individuos que tenían dos ramas bajas (hasta 1.70 m de altura) de aproximadamente el mismo diámetro y largo, así como condiciones de sombra y luz similares, con abundantes capullos florales y hormigas de las especies dominantes. En cada extremo de las ramas se enrolló una cinta de polietileno sobre la que se untó resina comercial (*Tree Tanglefoot*) en toda su extensión, de manera que se impedía el paso de insectos caminadores. Se removieron las hormigas que se observaban sobre la rama entre las dos cintas. Se colocó una gota de miel con Lannate al 1% (S-metil N-[(metilcarbamoil) oxi] tiocetimidato) que se degrada en 48 horas.

Después de transcurrida una semana y confirmada la ausencia de hormigas en las ramas experimentales, se procedió a marcar los capullos florales de aproximadamente 2 mm de longitud con alfileres

clavados en la corteza, al lado del cojinete floral, para no afectar la floración (1). Cada dos días se registraban las flores presentes. Cuando los capullos comenzaron la antesis (apertura floral), se continuaron las observaciones, anotándose el número de flores que permanecían sobre el cojinete floral. Se registraron como no fecundadas las flores caídas y como fecundadas aquellas que permanecían en el cojinete y mostraban un aumento en el volumen del ovario. Se continuó observando un grupo de flores para determinar su grado de supervivencia hasta llegar a los chireles (pequeños frutos) de aproximadamente 3 cm de longitud.

Los datos de cada árbol se analizaron por pares de ramas (i.e. ramas con y sin hormigas), utilizando el test pareado de Wilcoxon.

RESULTADOS

Distribución espacial de las hormigas

En el muestreo de hormigas se recolectaron especímenes de 12 géneros y 14 especies (Cuadro 1). Las especies más abundantes, en ambos muestreos (agosto y diciembre), fueron *A. foreli*, *W. auropunctata*, *Paratrechina* sp. 1, *Camponotus crasus* y *Ectatomma ruidum*. Sin embargo, la frecuencia sobre las plantas

de la primera de ellas disminuyó, junto con *Solenopsis* sp. 1, en la segunda recolección en relación con la de agosto, mientras que la de las otras especies aumentó, apareciendo además otras especies. En la plantación, la mayoría de los árboles tienden a estar ocupados por las especies dominantes y son pocas las plantas ocupadas por varias especies de hormigas.

En el Territorio Federal Amazonas, la variedad de especies de hormigas recolectadas fue mayor: 16 géneros con 28 especies. No se encontraron especies con alta frecuencia sobre las plantas de cacao, donde la dominante fue *Crematogaster* sp. 1, en siete plantas en Wasiña y nueve en Cacuri (Cuadro 2).

Las especies más frecuentes en la plantación (Caucagua) no se presentaron en las plantas de cacao silvestre del Territorio Federal Amazonas. Las especies comunes en las dos áreas fueron *Zacryptocerus* sp. 1, *Crematogaster* spp., *Camponotus crasus*, *Paratrechina* sp. 2 y *Cephalotes artratus* y, al comparar datos anteriores (13), se puede agregar a *Monasius bispinosa*.

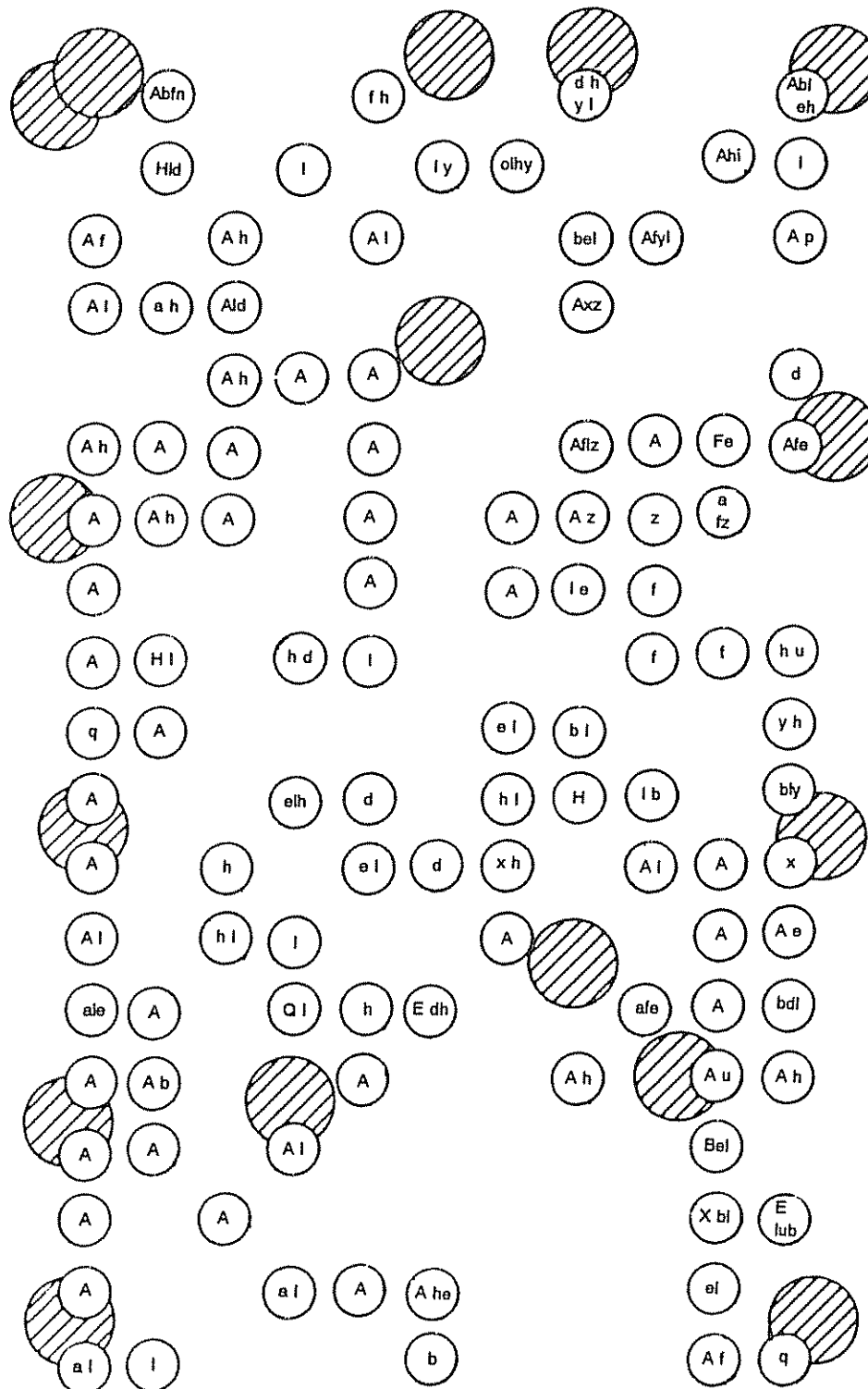
En la Figura 1, el área de distribución de las hormigas predominantes en las plantaciones se encuentra dispuesta en parches. La disposición espacial de las dos especies más abundantes (*A. foreli* y *W. auropunctata*) presenta pocas diferencias de agosto a diciembre.

Cuadro 1. Número de plantas de *T. cacao* con hormigas (Nr) y porcentaje de plantas con la hormiga, en agosto y diciembre de 1989 (n= 208).

Especie	Agosto		Diciembre	
	(Nr)	(%)	(Nr)	(%)
<i>Azteca foreli</i>	106	51.71	88	42.31
<i>Wasmannia auropunctata</i>	64	31.22	78	37.50
<i>Paratrechina</i> sp. 1	39	19.02	62	29.81
<i>Camponotus crasus</i>	21	10.24	43	20.67
<i>Ectatomma ruidum</i>	14	6.83	34	16.35
<i>Crematogaster</i> spp.	3	1.46	14	6.73
<i>Cyphomyrmex rimosus</i>	10	4.88	14	6.73
<i>Paratrechina</i> sp. 2	9	4.39	14	6.73
<i>Cephalotes artratus</i>	0	0.00	12	5.77
<i>Solenopsis</i> sp. 1	9	4.39	7	3.37
<i>Zacryptocerus</i> sp. 1	0	0.00	6	2.88
<i>Gnamptogenys tornata</i>	0	0.00	5	2.40
<i>Camponotus abdominalis</i>	0	0.00	2	0.96
<i>Pachycondyla villosa</i>	0	0.00	1	0.48

Cuadro 2. Número de plantas de *T. cacao* con hormigas, en el Territorio Federal Amazonas.

Especie	Localidad			
	Toki	Koyowateri	Wasiña	Cacuri
PONERINAE				
<i>Ectatomma quadridens</i>	1	—	—	—
<i>Ectatomma lugens</i>	—	—	1	—
<i>Platythyrea sinuata</i>	1	—	—	—
<i>Pachycondyla crassinona</i>	—	1	—	—
<i>Pachycondyla constricta</i>	—	—	1	—
<i>Pachycondyla carinolata</i>	—	—	1	—
<i>Pachycondyla stigma</i>	—	—	1	—
<i>Paraponera</i> sp.	—	—	—	1
PSEUDOMYRMICINAE				
<i>Pseudomyrmex</i> sp.	1	—	—	—
<i>Pseudomyrmex loopis</i>	—	—	—	1
FORMICINAE				
<i>Gigantiops destructor</i>	1	—	—	—
<i>Camponotus seviceiventis</i>	—	1	—	—
<i>Camponotus crasus</i>	2	—	—	—
<i>Camponotus</i> sp.1	1	—	—	—
<i>Paratrechina</i> sp.1	1	—	—	—
<i>Paratrechina</i> sp.2	2	—	—	—
<i>Paratrechina</i> sp.3	1	—	—	—
<i>Dendromyrmex</i> sp.	1	—	—	—
MYRMICINAE				
<i>Crematogaster</i> sp.1	1	—	7	9
<i>Crematogaster</i> sp.2	—	1	—	—
<i>Cephalotes artratus</i>	1	—	—	—
<i>Leptothorax</i> sp.	—	1	—	—
<i>Zacryptocerus tomata</i>	—	—	1	—
<i>Allomerus</i> sp.	—	—	1	—
<i>Solenopsis</i> sp. 2	—	—	—	1
DOLICHODERINAE				
<i>Dolichoderus lutosus</i>	1	—	—	—
<i>Dolichoderus bidens</i>	1	—	—	4
<i>Monacis bispinosa</i>	—	—	—	3



Leyenda: Las letras corresponden a las especies en el Cuadro 1; las mayúsculas indican especies dominantes sobre el árbol; los círculos pequeños representan plantas de *T. cacao*, y círculos con rayas a los árboles de sombra, *Artocarpus altilis* (Moraceae), *Ceiba* sp. (Bombacaceae) y *Erythrina* sp. (Leguminosae)

Fig 1. Distribución de nidos de hormigas por especies en plantaciones de cacao en Barlovento, Ven

En cuanto a la interrelación entre las diferentes especies de hormigas, en la plantación, se tiene que *A. foreli* presenta significativas correlaciones negativas con *W. auropunctata*, *Ectatomma ruidum*, *Ciphomyrmex rimosus* y *Paratrechina* sp. 1, en el muestreo del mes de agosto, que se mantuvo relativamente similar durante diciembre (la época lluviosa en la zona es de mayo a diciembre); las únicas diferencias son que las especies del género *Crematogaster* sustituyen a las *E. ruidum* en las correlaciones negativas, y se presenta una correspondencia positiva importante entre *C. artratus* y *Paratrechina* sp. 1.

Interacciones hormiga-flor

De 434 flores observadas de *T. cacao*, el porcentaje que tenía hormigas fue de 24.0% (Cuadro 3). Sólo cuatro especies de hormigas se presentaron sobre las flores; las que se encontraron con mayor frecuencia fueron: *Solenopsis* sp. 1 y *W. auropunctata*, que constituyen las hormigas más pequeñas (Cuadro 4). Asimismo *Solenopsis* sp. 1 fue la especie más dependiente de los homópteros asociados a las flores (Cuadro 3).

Cuadro 3. Porcentaje de flores con hormigas, homópteros y su concurrencia sobre flores de *T. cacao* (n:434 flores observadas).

	Hormigas	Homópteros	Flores con hormigas y homópteros
<i>A. foreli</i>	4.9	2.5	0.9
<i>M. bispinosa</i>	1.4	3.5	1.4
<i>Solenopsis</i> sp.1	10.1	9.7	9.4
<i>W. auropunctata</i>	7.6	2.3	2.1
Total	24.0	18.0	13.8

La posible interacción entre el pedicelo y las hormigas se manifiesta en que aquel impide de alguna forma el acceso de la hormiga a la flor. El total de flores con hormigas en que el acceso a ellas era indirecto, por medio del pedicelo, era menor (p ; Chi cuadrado) que aquel en que era directo a la flor gracias a un alfiler que la sujetaba contra la corteza del árbol (Cuadro 4).

Las interacciones de obreras *A. foreli* y *M. bispinosa*, con obstáculos en el camino (pedicelo y sección de la nervadura de la hoja), no fueron diferenciables ($p < 0.05$, test de Wilcoxon). Esquivar la dificultad fue el comportamiento predominante. El número de interacción fue mayor entre obreras de *Solenopsis* sp. y *Wasmania*

Cuadro 4. Porcentaje del número de flores de *T. cacao* con hormigas en las partes distales de la flor (217 observaciones en cada caso).

	Flores libres		Flores tocando la corteza	
	pedicelo	flor	pedicelo	flor
<i>A. foreli</i>	1.8	2.8	0.5	4.6
<i>M. bispinosa</i>	0.9	0.5	0.9	0.5
<i>Solenopsis</i> sp.1	3.2	6.9	1.8	8.3
<i>W. auropunctata</i>	2.8	3.7	1.4	7.4
Total	8.7	13.9	4.6	20.8

Note: $p < 0.05$; usando χ^2 comparando flores libres con las que tocan la corteza.

auropunctata, aunque sólo en el caso de *W. auropunctata* se obtuvieron diferencias estadísticas significativas; obreras de esta especie permanecieron interactuando con mayor frecuencia ante el pedicelo y caminaron sobre él con menor perseverancia en relación con la nervadura de hoja (p , test de Wilcoxon).

El número de tricomas glandulares del pedicelo, intactos o sin cabeza, ante la presencia o no de las hormigas *A. foreli* y *W. auropunctata* no fue diferente. Es decir, no interfieren con los tricomas florales del pedicelo.

Grado de polinización

La flor de cacao abre en 20 días aproximadamente, después de emerger como botón en el cojinete floral (Fig. 2). No se pudo detectar ningún efecto de las hormigas sobre la supervivencia de los botones florales ($p > 0.1$, test de Wilcoxon (Cuadro 5)). En el Campo Experimental Padrón, se estudió la polinización en los capullos florales con desarrollo completo y que abrieron.

Es notoria la mayor supervivencia de capullos ante la ausencia de hormigas *A. foreli*; por el contrario, el porcentaje de apertura floral fue mayor con la presencia de hormigas en el caso de *W. auropunctata*. Por lo tanto, *A. foreli* actúa claramente sobre la polinización de la flor y no sobre la supervivencia de los chireles (Cuadro 5).

Cuadro 5. Supervivencia de flores y chireles de *T. cacao* ante la presencia o ausencia de hormigas *W. auropunctata* y *A. foreli* en Caucaagua.

	<i>W. auropunctata</i>		<i>A. foreli</i>	
	sí	no	sí	no
Presencia de hormigas				
Número de flores (capullos)	1 371	1 155	1 137	1 095
Flores que abren (supervivencia de botones florales)*			20.0	26.8
Flores polinizadas (%)	3.8	2.6	3.4	5.9
Flores que producen frutos (chireles) (%)*			90.9	80.5
Incremento de la polinización debido a presencia de hormigas	46.2		-42.4	
Significancia: test pareado de Wilcoxon	p < 0.02		p < 0.01	

* Calculado sobre 788 y 804 flores sin y con hormigas respectivamente, en árboles que tenían en su mayoría pero no exclusivamente *A. foreli*.

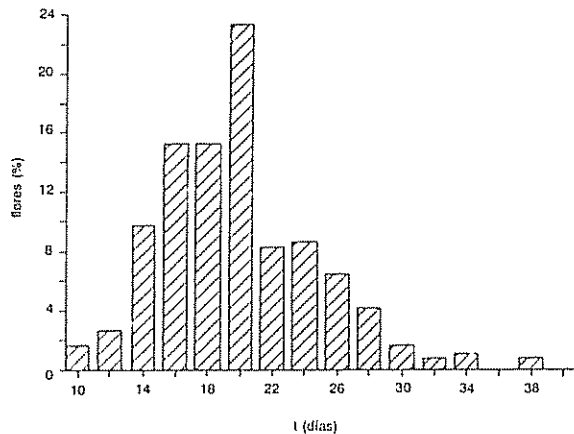


Fig 2 Fenología floral de *T. cacao*. Número de días que se tarda una flor en abrir desde la fase de botón en el cojinete floral.

DISCUSION

En la plantación (Caucaagua), unas pocas especies de hormigas son dominantes y excluyen a otras especies de su territorio de igual manera que en plantaciones de cacao en Africa (20). En Costa Rica, Young (36) obtuvo resultados similares; eso sugiere que es una característica en las plantaciones de cacao (31, 32). Esto explica la muestra limitada, recolectada solo como una fracción de las especies de Formicidae reportadas para cacao en la zona (13). En cambio, en las plantas muestreadas en el Territorio Federal Amazonas se encontró una mayor variedad de especies de hormigas y una ausencia notable de las más comunes en las plantaciones comerciales, i.e. *Azteca* spp. y *Wasmania auropunctata*.

La mayor diversidad de especies de hormigas en el Territorio Federal Amazonas se debe, probablemente, a la alta diversidad botánica de la selva lluviosa tropical, lo que proporciona una gran variedad de microhábitat, permitiendo el sostenimiento de más variedades de especies, pero con menor abundancia (7).

I. cacao se origina aparentemente en el estrato inferior de los bosques lluviosos tropicales en la cuenca del Amazonas (6), donde se encuentra en pequeñas poblaciones aisladas (10, 21), aunque se informa sobre recientes evidencias de que si bien el género *Theobroma* es originario de la cuenca del Amazonas, *I. cacao* parece que fue introducido por los aborígenes hace unos pocos miles de años desde Centroamérica (27, 28).

La disposición espacial en mosaicos de las áreas ocupadas por las hormigas predominantes, parece ser una característica de las plantaciones de cacao (17). La estabilidad de esta disposición se mantiene parcialmente por competencia interespecífica; por eso, factores como el rociado de insecticidas podrían originar la dispersión de especies adyacentes dentro del territorio de las hormigas debilitadas (19; algunas especies pueden recuperarse y llegar a un nuevo punto de equilibrio que puede ser estable en el tiempo, cuando se deja de aplicar insecticidas.

Es posible que la presencia de hormigas favorezca la polinización y afecte la producción de los chireles. Si a ello se le suma el papel antiherbívoro que tienen algunas especies de hormigas (13), es evidente que el manejo racional de estos insectos es una vía muy promisoría para el mantenimiento de cultivos de cacao en condiciones óptimas.

A pesar de la abundancia de hormigas en el cultivo, su frecuencia sobre las flores de *I. cacao* es baja. Esto se debe, en parte, a la existencia de mecanismos que evitan que las hormigas lleguen y caminen sobre la flor

o las repelen de sus partes internas (14). En el caso de *T. cacao* las dimensiones y disposición morfológica de las diferentes partes de la flor; la presencia, longitud, densidad de tricomas simples y glandulares o la acción de sustancias repelentes o tóxicas (3, 9, 34), son esos mecanismos que se oponen al paso de las hormigas.

Como los tricomas glandulares (35) no son recolectados por las hormigas y el paso de ellas hacia las partes distales de las flores se dificulta, especialmente para *W. auropunctata*, se puede considerar que esos tricomas actúan como parte del mecanismo de impedimento hacia el interior de la flor. Sin embargo, se encuentra que *W. auropunctata* y *Solenopsis* sp.1 pueden visitar las partes distales de las flores, siendo las hormigas más pequeñas las que superan el impedimento morfológico de las pequeñas flores (2, 5, 7) como el posible mecanismo que evita la visita de insectos no especializados en la polinización (3, 9, 34). El mayor contacto de estas hormigas con las flores podría incrementar la probabilidad de relación de éstas con el estigma alargado y, entonces, actuar como polinizadores secundarios. Esta posibilidad cobra interés en el caso de los individuos de cacao autocompatibles, como las plantaciones en las cuales se trabajó (24). El papel directo de distintas especies de hormigas en la polinización del cacao ha sido previamente señalado por varios investigadores (Jones (12), en Dominica; Harland (11); Pound (23) y Posnette (22), en Trinidad; Sánchez y Reyes (26), en Venezuela); aunque otros rechazan esa posición (Winder (37) y Hernández (12)).

Aquí se presentan evidencias experimentales de que *W. auropunctata* favorece la polinización, como polinizador o mediante su acción depredadora sobre los trips. Se observó a las obreras de esta especie, en algunas oportunidades, con trips (Thysanoptera) entre sus mandíbulas, cuando se encontraban dentro de la flor. Aunque no se cuantificó la cantidad de trips sobre la flor de cacao, sí eran relativamente comunes. *Selenothrips rubrocintus* Giard (Thysanoptera, Thripidae) es polífago y ataca el cultivo en todas las regiones cacaoteras del mundo (5, 16, 26); en Brasil es considerado como una de las principales plagas del cacao (29). Por todo esto, se considera a *W. auropunctata* como beneficiosa para una plantación de cacao. En las plantaciones de Camerún se han introducido colonias de *W. auropunctata*, lográndose el control de plagas (20).

Por el contrario, *A. foreli* fue la especie más abundante y dominante en la plantación de Caucahua, ausente en el cacao de crecimiento espontáneo en el Territorio Federal Amazonas, con un efecto negativo sobre la fecundación floral. Además son muy territoriales y excluyen otras especies de hormigas que son buenas depredadoras de plagas del cacao (13). Este

resultado se opone al informado por Vello y Magalhães (33) que indica un aumento de la polinización con la presencia de *Azteca charitifex*. Por lo tanto, cada especie de hormiga puede tener efectos diferentes sobre la polinización en cacao. Por ello, se puede recomendar un manejo de las plantaciones cacaoteras que excluya únicamente a hormigas de la especie *A. foreli*.

LITERATURA CITADA

1. ALVIM, P.; MACHADO, A.; VELLO, F. 1981. Respuestas fisiológicas del cacao a los factores ambientales. El Colombiano 17:27-52.
2. ALVIM, P. 1984. Flowering of cacao. Cocoa Growers Bulletin 35:23-31.
3. BAKER, H.G.; BAKER, I. 1978. Ant and flowers. Biotrópica 10(1):80.
4. BENILEY, B. 1977. The protective function of ants visiting the extrafloral nectaries of *Bixa orellana* (Bixaceae). Journal of Ecology 65:27-38.
5. COSTE, R. 1970. El cacao. España. Ed Blume p. 297.
6. CUATRECASAS, J. 1964. Cacao and its allies a taxonomic revision of the genus *Theobroma*. United States National Herbarium p. 605.
7. ENTWISLE, P.F. 1972. Pest of cacao. Longman p. 103.
8. FEINSINGER, P.; SWARM, L. 1978. How common are anti-repellent nectars? Biotrópica 10(3):238-239.
9. GUERRANT, E.; FIEDLER, P. 1981. Flower defenses against nectar-pilferage by ants. Reproductive Botany 1981:25-33.
10. HARDY, F. 1960. El manual del cacao. San José. C.R. p. 436.
11. HARLAND, ? 1925. Studies in cacao. In The method of pollination. Annals of Applied Biology 12:403-409.
12. HERNANDEZ, J. 1965. Insect pollination of cacao (*Theobroma cacao* L.) in Costa Rica. p. 167.
13. JAFFE, K.; TABLANTE, A.; SANCHEZ, P. 1986. Ecología de Formicidae en plantaciones de *Theobroma cacao*. In Revista Theobroma 16:189-197.
14. JANZEN, D. 1977. Why don't ants visit flowers? Biotrópica 9:(4).
15. JONES, G.A. 1912. The structure and pollination of the cacao flower. West Indian Bulletin 2:347-350.
16. KIRKPATRICK, T. 1952. Notes on minor insect pests of cacao in Trinidad: Entomological Section p. 10.

17. LESTON, D. 1970. Entomology of the cocoa farm. Annual Review of Entomology 15:273-294
18. LESTON, D. 1973. The ant mosaic-tropical tree crops and the limiting of pests and diseases. PANS 19(3):311-341.
19. MAJER, J.D. 1978. The influence of blanket and selective spraying on ant distribution in a West African cocoa farm. Revista Theobroma 8:87-93.
20. MAJER, J.D. 1982. The foraging activity of some West African cocoa farm ants. Revista Theobroma 12(3):155-162
21. OVIDIO, R. 1982. Manual del cacaotero. 2 ed. Orientación Agropecuaria no. 132 p. 122.
22. POSNETTE, A.F. 1938. Incompatibility and pollination in cacao. Seventh annual report on cocoa research. Tri, ICTA. p. 19-20
23. POUND, F.J. 1933. Studies of fruit fulness in cacao. III. Factors affecting fruit esting. Second annual report on cocoa research. Tri, ICTA. p. 29-36.
24. REYES, E., PEREZ, A.; REYES DE, L.; WAGNER, M. 1973. Catálogo de cultivares de cacao (*Theobroma cacao*). Ven., MAC Estación Experimental de Caucahua. p. 131.
25. ROMERO, H.; JAFFE, K. 1989. On methods for sampling of Formicidae in savannahs. Biotropica 21:348-352.
26. SANCHEZ, P.; REYES, L. DE. 1979. Insectos asociados al cultivo del cacao en Venezuela. FONAIAP. Boletín no. 11. p. 56
27. SANCHEZ, P.; JAFFE, K.; MULLER, M.C. 1989. El género *Theobroma* en el Territorio Federal Amazonas (Venezuela). I. Notas etnobotánicas y consideraciones agronómicas. Turrialba 39:440-446.
28. SANCHEZ, P.; JAFFE, K. 1989. El género *Theobroma* en el Territorio Federal Amazonas (Venezuela). II. Distribución geográfica. Turrialba 39:446-454.
29. SMITH, E.; DE ABREU, M.; VENTOCILLA, A. 1971. Competiç de insecticidas no combate ao tripses do cacauero, *Selenothrips rubrocinctus* (Giard), no Espírito Santo. Revista Theobroma 1(1):15-21.
30. SOETARDI, R.G. 1950. The importance of insects for the pollination of *Theobroma cacao* L. Archives of Cocoa Research (Indonesia)
31. TAYLOR, B. 1977. The ant mosaic on cocoa and other tree crops in Western Nigeria. Ecological Entomology 2:245-255
32. TAYLOR, B.; ADEDONYIN, S. 1978. The abundance and inter-specific relations of common ant species (Hymenoptera: Formicidae) on cocoa farms in Western Nigeria. Bulletin of Entomological Research 68:105-121.
33. VELLO, F.; MAGALHAES, W.S. 1971. Estudos sobre a participacao da formiga cacarema (*Azteca charifex*) na polinizacao do cacauero na Bahia. Revista Theobroma 1:29-42.
34. VOGEL, S. 1983. Ecophysiology of zoophilic pollination. III. The physiological plant ecology. Lange, Nobel, Osmond, Ziegler (Eds) p. 559-624.
35. YOUNG, A.M.; SCHALLER, M.; STRAND, M. 1984. Floral nectaries and trichomes in relation to pollination in some species of *Theobroma* and *Herrania*. American Journal of Botany 71:466-480
36. YOUNG, A.M. 1986. Notes on the distribution and abundance of ground-and arboreal-nesting ants (Hymenoptera: Formicidae) in Costa Rican *Theobroma cacao* habitats. Proceedings of the Entomological Society of Washington 88(3):550-571
37. WINDER, J.A. 1977. Field observations on Ceratopogonidae and other Diptera: Nematocera associated with cocoa flowers in Brazil. Bulletin of Entomological Research 67:57-63

Austro eupatorium inulaefolium H.B.K. Extracts in Detering Feeding of the Rice Weevil on Wheat¹

M.E. Alonso*

ABSTRACT

Organic extracts of *Austro eupatorium inulaefolium* H.B.K., a bush common in mountain valleys of northern South America, were evaluated for their repellent or feeding deterrence qualities against adults of the rice weevil *Sitophilus oryzae* L. reared on wheat. Methanol, acetone-dichloromethane, and hexane extracts were found to be increasingly active in that order, with deterrence indexes of 0.57, 0.21 and 0.17, respectively, at 0.5% (w/w) dosage. The activity was maintained after eight weeks of treatment. This activity was found to be actual feeding deterrence rather than mere contact repellency.

Key words: *Austro eupatorium inulaefolium*, *Sitophilus oryzae*, wheat, feeding deterrence.

COMPENDIO

Los extractos orgánicos de *Austro eupatorium inulaefolium* H.B.K., una planta arbustiva común en los valles de montaña del norte de Suramérica, fueron evaluados por su actividad de repelencia o disuasión alimentaria contra ejemplares adultos del gorgojo del arroz *Sitophilus oryzae* L., cultivado sobre trigo. Los extractos de metanol, acetona-diclorometano y hexano fueron encontrados activos con índices de disuasión de 0.57, 0.21 y 0.17 respectivamente, al 0.5% (w/w) de dosificación. La actividad se preservó sin cambio luego de ocho semanas de tratamiento en el trigo. Se determinó que correspondía a la disuasión alimentaria en vez que a la repelencia por contacto.

INTRODUCTION

Stored grain, a high concentration of food energy, is subject to heavy attack by rodents, fungi and insects. Losses are worst in tropical areas due to a combination of environmental factors such as high air moisture and high temperatures throughout the year, and poor management practices, such as low quality bins, inadequate drying processes and only occasional spraying with increasingly costly pesticides.

As a consequence of rising costs, increasing ineffectiveness (10, 18) and indiscriminate toxicity of many synthetic pesticides, there has been an upsurge in the investigation of biologically active plants in recent years. This activity has revealed great potential as a

source of new, biodegradable chemicals useful for the control of weed and insect pest populations. The application of some of these extracts and compounds for cereal grain protection and against other agricultural pests has been repeatedly reviewed (8, 9, 11, 12).

However, few tropical plant species, with the remarkable exceptions of *Wargurgia* and *Azadirachta* (1, 5, 7) have been examined in this context, in spite of their longstanding importance from a purely phytochemical standpoint. A program was therefore started to develop biorational allelochemicals for the control of some prevalent stored-grain insect pests from endemic plants of northern South America, taking advantage of the enormous biodiversity of this area.

The results of evaluations of methanol, acetone-methylene-chloride, and hexane extracts of the locally named worm bush, *A. inulaefolium*, against the rice weevil *S. oryzae* widespread, destructive pest of stored cereals in many parts of the world, are reported.

MATERIALS AND METHODS

Insect culture: One hundred rice weevils reared on wheat from a stock maintained in the laboratory were allowed to feed on 200 g of wheat kernels for 48 hours.

¹ Received for publication 16 November 1990. Contribution no. C-326-87-1 of the Ecological Chemistry Laboratory, Chemistry Department, School of Science, Universidad de Los Andes, Merida 5101, Ven. The author is grateful to the Consejo de Desarrollo Científico/Humanístico y Tecnológico, Universidad de los Andes, Merida, Ven., for financial support.

* Coordinator, Ecological Chemistry Group, Universidad de Los Andes, Merida, Ven.

The weevils were removed and the kernels were placed in 0.5 jars covered with cheesecloth, placed in an incubator at 26°C - 29°C, at 60+5% relative humidity (RH) and 12/12 h LD photoperiod. After 52 days, adults started to emerge. Those adults emerging from 52 - 56 days were collected, allowed to feed on wheat for an additional 18 day period under similar environmental conditions and then used for testing.

Plant material and extraction: Non-flowering *A. inulaefolium* stands approximately one year old were collected in November 1988 from an open field 5 km southwest of the city of Merida, at 1850 m above sea level. Young and intermediate leaves were clipped from stems and dried at room temperature for two weeks, and then used for extraction. A sample of this material was weighed, then dried in an oven at 60°C for 48 h, and weighed again to assess the residual moisture. This was found to be 5.9% in all samples studied. The leaf material was ground to a fine powder and divided into three 60 g portions. Each portion was suspended with mechanical stirring in 800 ml of methanol (MeOH), acetone-methylene-chloride (Ac-MC) in a 1:1 ratio, and hexane (Hx), respectively, at 30-40°C for two hours. Each extract was then filtered through glass wool and evaluated for its content of non-volatile material by evaporation under vacuum of a 10 ml aliquot and by weighing the residue. The extracts were found to contain (MeOH) 24.1%, (Ac-MC) 9.1% and (Hx) 4.3% of non-volatile matter. The extracts were stored at 5°C until used.

Feeding deterrency

Grain treatment: Wheat used in rearing and in the bioassays was collected from a farm near Mucuchies, Merida, Mex. at 2650 m above sea level. The grain was free from pesticide or fertilizer use during cultivation, and devoid of insect damage owing to prevailing low temperatures. Wheat was selected as a testing cereal because rice weevil is a primary pest of wheat which breeds there more successfully than in local strains of rice. Grain was acclimated to constant humidity for six weeks before the tests, and moisture content was determined weekly 14% before this period ended. This was found to be in the 13.0% to 14.5% range. 700 g clean kernels were placed in equal amounts in three 500 ml round-bottomed flasks and mixed with 750 ml of extract solution containing 3.5 g of non-volatile material so as to yield a 0.5% (w/w) extract dose. Solvents were distilled to dryness in a rotary evaporator at 40°C. The kernels were thus covered with a uniform layer of extract. The treated grain was spread in trays and allowed to acclimate in the environmental chamber under the aforementioned conditions, for 72 h before use.

Two choice-test: The modified method of Mikolajczak and Reed (13) was performed as follows: Four 4.0 cm x 4.0 cm plastic cups filled to the rim with 43 g of treated kernels were placed in a wooden 21 cm x 21 cm x 6 cm box in a circular fashion. Four additional cups filled with control kernels were placed interspaced within the former cups, thus forming a circle of approximately 15 cm in diameter. Paper strips bridging contiguous cups were added to facilitate insect dispersion. Four boxes were prepared in a similar fashion and were acclimated in the testing chamber under the aforementioned conditions for 24 h before use. Then, at time zero, 128 unsexed, 18-22 day-old adult weevils were released in the center of each box. The boxes were immediately covered with a glass lid to prevent the insects from escaping. Few insects remained outside the cups after 5 h - 10 h of exposure.

Weevils in each cup were counted after 24 hours. No significant mortality was recorded (%). Four replicates of this experiment were performed on consecutive days. The tests were repeated two, four, and eight weeks after treatment of the kernels with plant extracts, using fresh insects each time. Insect counts were converted to percentages, and frequency distribution histograms were constructed to calculate mean population values in treated and control cups. Both average values were compared using Duncan's multiple range test. Deterrency indexes (DI) were calculated using the formula $DI = \% \text{ insects in treated cups} / \% \text{ insects in control cups}$, based on Mikolajczak and Reed (13).

Split arena test: A 10 cm Whatman No. 1 filter paper was sprayed on one half with 0.5% (w/w) extract solution of the test plant, while the other half was covered with a glass plate. The process was repeated by spraying the second half of the filter paper with solvent only. The filter paper was allowed to dry overnight at room temperature and was placed in a Petri dish inside the environmental chamber. At time zero, 10 weevils were released in the center of the dish, which was quickly covered. Insects standing on both surfaces were counted every 15 min for the next four hours in four parallel Petri dishes similarly prepared.

RESULTS AND DISCUSSION

A. inulaefolium was chosen for this study based on three criteria: 1) This bush is a prevalent, second-generation growth of secondary forests in cleared areas of mountain valleys 900 - 2000 masl, in the northern Andean ranges of South America. In spite of its relative abundance, arthropod and mammal herbivores display little interest in feeding on this plant, probably because of its bitter taste (to humans); 2) some farmers in the Venezuelan Andes spray *A. inulaefolium* extracts to

protect their cabbage and cauliflower crops from attack by well-adapted lepidopteran pests such as *Pieris arypa*; 3) in the Merida area, we have been able to detect only one insect species that uses the worm bush to a significant extent as its host plant, from which it derives its common name. This insect is the larvae of *Actinotes thalia antea* (Lepidoptera) which feeds actively on its leaves. The host association of adapted insects has been taken as an indication of the probable presence in the plant of allelochemicals with potent general anti-insect properties, a product of evolutionary pressure.

Figures 1a, 1b, 1c show population distributions of rice weevils in the two-choice test. The methanol extract showed the smallest effect (DI=0.57), in spite of being the major contributor to whole plant extract

(24.1% of dry weight, the medium- and low-polarity extracts showed the strongest feeding deterrence (see Table 1).

The split-arena test indicated that this effect is not simple repellency to contact with plant chemicals, as insects did not show a meaningful preference for the untreated area. Weevils and other stored product pests tend to settle on their food supply, hence the observed distributions should be interpreted in terms of food preference for the untreated wheat. This conclusion is underscored by the accumulation of over 40% (51 insects) of the weevils in only one of the four untreated wheat cups presented to them in two of the recorded experiments, while several cups containing treated kernels remained essentially unpopulated, as seen in Figure 1c.

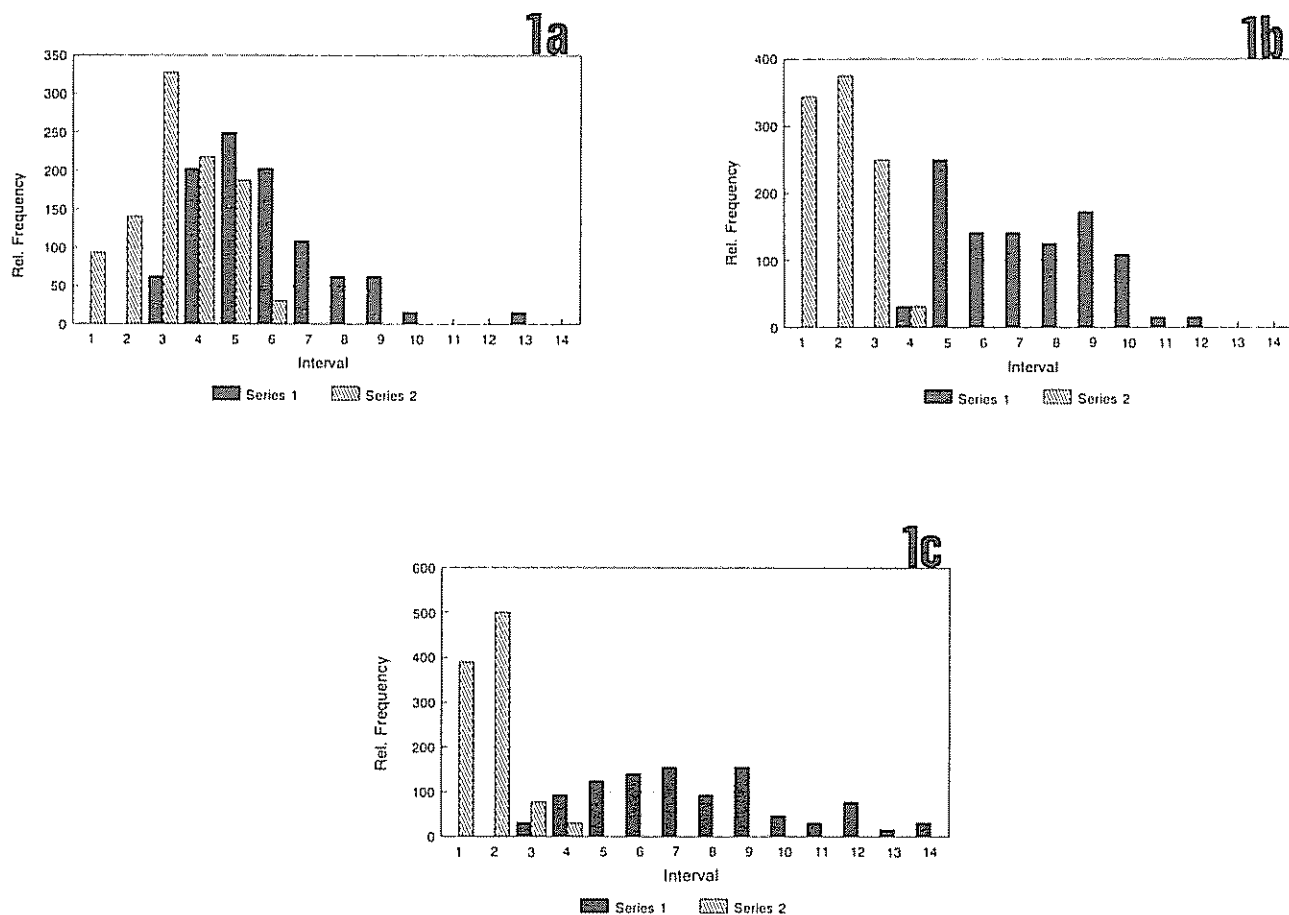


Fig 1abc. Frequency distribution histograms of *S. oryzae* populations in treated and control wheat kernels, based on 128 insects per experiment in two-choice tests, over 64 replicates. Grain treatment with *A. inulaefolium* extracts at 0.5% (w/w) dosage. See Table 3 for mean percentage values of each interval. 1a: MeOH=methanol extract. 1b: Ac-MC= acetone-methylene chloride 1:1 extract. 1c: Hx= Hexane extract. Series 1= controls. Series 2= treated grain

Table 1. Deterrency Indexes (DI) calculated for methano (MeOH), acetone-methylene chloride (Ac-MC) 1:1, and hexane (Hx) extracts of *A. inulaefolium* in twochoice tests against *S. oryzae* on wheat at 0.5% (W/W) dosage.

Extract	Insects per cup group (%)		DI	Net effect
	Treated	controls		
MeOH	8.58 ± 6.33	14.9 ± 8.12 ^a	0.57	weak
Ac-MC	4.41 ± 4.19	20.2 ± 10.3	0.21	strong
Hx	3.75 ± 3.6	21.24 ± 13.4	0.17	very strong

a Mean values not significantly different.

Feeding deterrence by *S. oryzae* did not decrease significantly for at least 8 weeks after treatment with *A. inulaefolium* extracts of low and medium polarity (see Table 2). This fact suggested that those compounds responsible for feeding discouragement are not readily hydrolyzed or oxidized by exposure to the atmosphere, even as thin layers over the kernel surface.

Table 2. Variation of deterrency index (DI) of *A. inulaefolium* extracts to *S. oryzae* adults on wheat with time elapsed since grain treatment.

Extract	Time		
	4 days	4 weeks	8 weeks
Ac MC	0.21	0.23	0.20
Hx	0.17	0.19	0.20

Table 3. Actual value of intervals of figures 1 a, b, c as percentage of insects.

Interval (num.)	Mean value of interval (%)
1	1.5
2	4.5
3	7.5
4	10.5
5	13.5
6	16.5
7	19.5
8	22.5
9	25.5
10	28.5
11	31.5
12	34.5
13	37.5
14	40.5

A few new compounds have been isolated in the recent past from *A. inulaefolium* (2, 3, 14, 15). However, to our knowledge, none of these substances has ever been evaluated for its anti-insect activity. In addition, the known organic chemistry of the worm bush remains largely unreported, not to mention of its chemodynamics. At this point, our studies are aimed at shedding some light on these matters. Meanwhile, the results presented here point towards *A. inulaefolium* as a source of chemicals with potential for protecting cereal grains in storage.

LITERATURE CITED

- BARNES, C.S.; LODER, J.W. 1962. The structure of polygodial: A new sesquiterpene dialdehyde from *Polygonum hydropiper* (L.). Australian Journal Chemistry 15:322-327.
- BOHLMANN, F.; ZDERO, C.; GRENZ, M. 1977. Naturally occurring terpene derivatives 81: Further constituents of representatives of the *Eupatorium* group. Chem. Ber 110(3):1024-1041.
- BOHLMANN, F.; SUWHA, A.; KING, R.M.; ROBINSON, H. 1980. Naturally occurring terpene derivatives. Phytochemistry 19(1):111-114.
- BOHLMANN, F.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; JAKUPOVIC, J. 1984. Nor-ent-labdane derivatives from *Austro eupatorium inulaefolium*. Planta Medica 50(2):199-200.
- BROOKS, C.J.W.; DRAFFEN, G.H. 1969. Sesquiterpenoids of *Warburgia* species: Ugandensolide and ugandensidial (Cinnamodial). Tetrahedron 25:2887-2898.
- BUTTERWORTH, J.H.; MORGAN, E.D. 1968. Isolation of a substance that suppresses feeding in locusts. Chem Commun. p. 23.
- FRIIZ, G.L.; MILLS JUNIOR, G.D.; WARTHERN JUNIOR, J.D.; WATERS, R.M. 1989. Reimer-Tiemann adducts as potential insect antifeedant agents: Reviewing

- their structure-activity relationship theory of the antifedant warburganal. *Journal of Chemical Ecology* 15(12):2607-2623.
8. GOLOB, P.; WEBLEY, D.J. 1980. The use of plants and minerals as traditional protectants of stored products. London. Report of the Tropical Products Institute
 9. GRAINE, M.; AHMED, S. 1989. Handbook of plants with pest control properties. New York. Wiley Interscience
 10. HALLIDAY, W.R.; ARTHUR, F.H.; ZETTLER, J.I. 1988. Resistance status of red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) infesting stored peanuts in the South Eastern United States. *Journal of Economic Entomology* 81:75-77.
 11. JACOBSON, M. 1983. Phytochemicals for the control of stored product insects. In International Working Conference on Stored Products Entomology (3). Proceedings. Manhattan. Kansas State University. p. 182-195.
 12. JILANI, G. 1984. Use of botanical materials for the protection of stored food grains against insect pests: Roles of allelochemicals. Washington, D.C., American Chemical Society
 13. MIKOLAJCZAK, K.L.; REED, D.K. 1987. Extractives of seeds of the Meliaceae: Effects on *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), *Acalymma vittatum* (F.), and *Ariemina salina* Leach. *Journal of Chemical Ecology* 13(1):99-111.
 14. MOSQUERA, A.; RIVERA, V.; RODOLFO DE GIL, E.; BAHIAS, A. 1985. Structure of a diterpene from *Austrocupatorium inulaefolium* and of R: 2,18-diacetoxy-15,16-epoxy-3-hydroxy-12-oxo-norlabda-8(17), 13(16), 14-triene monohydrate. *Acta Crystallogr Sect. C: Cryst. Struct Commun* 41(3):433-436
 15. OBERH, J.C.; SOSA, V.E. 1984. Ent-norlabdane triols from *Austrocupatorium inulaefolium*. *Phytochemistry* 23(9):2003-2006.
 16. PIADT, R.E. 1978. Fundamentals of applied entomology 3 ed New York, MacMillan p 591
 17. RHOADES, D.F. 1979. Evolution of chemical defense against herbivores. In *Herbivores: Their interaction with secondary plant metabolites*. G.A. Rosenthal, D.H. Janzen (Eds). New York, Academic Press p 4-55
 18. SAWICKI, R.M.R. 1985. Resistance to pyrethroid insecticides in arthropods. *Prog Pestic Biochem Toxicology* 5:143-192.

RESEÑA DE LIBROS

SOIL COLLOIDS AND THEIR ASSOCIATIONS IN AGREGATES. 1990. M. F. de Boodt, M. H. Hayer, A. Herbillon (Eds.). New York, Plenum Press. 598 p.

Excelente libro de referencia con más información de lo que promete el título. En él los 32 autores de los 21 capítulos presentan revisiones actualizadas sobre cinco de los aspectos fundamentales de la ciencia del suelo desde el punto de vista de las asociaciones coloidales.

La primera parte ocupa más de un tercio del volumen y está dedicada a los coloides inorgánicos y las técnicas modernas para su estudio. Se indica en estos capítulos un resumen crítico de la información y de las bibliografías que hay en el ámbito mundial.

Los coloides orgánicos son el tema de la segunda parte, con una orientación especial hacia los puntos de vista que la escuela inglesa tiene en este campo.

Las interacciones y estructuras que resultan de los contactos arcillas-agua y su influencia en la microestructura de suelos son examinadas en la tercera parte del libro. Esta información no es fácil de obtener

y es útil para tomar decisiones sobre el manejo físico sostenible de suelos.

Los agregados en suelos se discuten en la cuarta parte. Ahí se sintetiza gran cantidad de la información de los capítulos previos y se presenta la aplicación de los principios previamente examinados.

La última parte informa sobre acondicionadores de suelos y los agregados que resultan de su aplicación. Analiza, además, las posibilidades y las limitaciones que resultan de su uso. Un breve capítulo de esta sección se dedica al control de la erosión en los trópicos.

Es un volumen de referencia muy útil, tanto por la alta calidad de sus autores, como por las opiniones novedosas que se exponen. Se considera que, para toda biblioteca que apoye los trabajos en suelos, ya sean de aplicación agrícola o de protección del medio ambiente, este texto puede ser de considerable provecho.

ELEMER BORNEMISZA
CENTRO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Redistribución de las Precipitaciones en un Bosque Siempreverde del Sur de Chile¹

A. M. Huber,* C.E. Oyarzún*

ABSTRACT

Redistribution of incident precipitation into throughfall, stemflow and interception loss has been studied in a native evergreen forest in southern Chile. During the period of measurements (1986, 1987) throughfall and stemflow amounted to 62.9% and 1.4% of incident precipitation, respectively. The loss from interception by canopy and litter was estimated at 29.3% and 8.3% respectively, hence effective precipitation that actually entered the soil represented 62.4% of total precipitation. The amounts of water necessary for saturating the canopy and the trunks were estimated at 2.1 mm and 5.1 mm respectively. Significant relations were found between the duration and intensity of the precipitation and the amounts of throughfall, stemflow and canopy interception. In general, as duration and intensity of rainfall increase, the amounts of throughfall, stemflow and interception became greater.

INTRODUCCION

La vegetación arbórea ejerce una marcada influencia sobre la cantidad y redistribución de las precipitaciones pluviales. Una parte de la precipitación total en un ecosistema forestal es retenida por las copas y troncos de los árboles (intercepción del dosel) y reintegrada a la atmósfera por evaporación. Del agua que alcanza el piso del bosque, una fracción proviene del goteo de las hojas o directamente por medio del dosel (precipitación directa); el resto llega al suelo mediante los troncos (escurrimiento fustal). En el nivel del suelo (precipitación neta), una parte de la cantidad total es retenida por la hojarasca y devuelta a la atmósfera por evaporación (intercepción de la hojarasca) y la restante alcanza la superficie del suelo (precipitación efectiva).

COMPENDIO

Se estudió la redistribución de las precipitaciones en precipitación directa, escurrimiento fustal e intercepción en un bosque nativo siempreverde del sur de Chile. Durante el período de mediciones (1986-1987), la precipitación directa y el escurrimiento fustal representaron el 62.9% y el 1.4% de la precipitación incidente. Las pérdidas por intercepción del dosel y de la hojarasca fueron estimadas en 29.3% y 8.3%, por lo que la precipitación, que efectivamente ingresó al suelo, representó el 62.4% de las precipitaciones. Las cantidades de agua necesarias para saturar el dosel y los troncos fueron estimadas en 2.1 mm y 5.1 mm, respectivamente. Se hallaron relaciones significativas entre la duración e intensidad de las precipitaciones con los montos de precipitación directa, escurrimiento fustal e intercepción del dosel. En general, a medida que aumentan la duración e intensidad de las lluvias, son mayores los montos de la precipitación directa, escurrimiento fustal e intercepción.

Palabras claves: Redistribución, precipitaciones, bosque siempreverde, Chile.

En los ecosistemas forestales, el número de los componentes de la redistribución de las precipitaciones varía ampliamente, dependiendo de las especies, estructura del bosque, características de las precipitaciones y condiciones geográficas del lugar (2). Zinke (18) ha informado acerca de valores de intercepción en Estados Unidos de América (EE.UU.) que varían desde 58% en *Picea abies* y 33% en *Thuja plicata* hasta 7%-20% en árboles deciduos. Ovington (13) encontró también valores de 17%-20%, y 36%-54% para coníferas. En Australia, Prebble y Stirk (15) establecieron una intercepción del 11% en *Eucalyptus melanophloia* y Jackson (9) determinó un 16% de intercepción en un bosque del trópico húmedo. Jaro (10) encontró, para diferentes especies en Hungría, intercepciones que van desde el 32% al 51 por ciento. Oyarzún, Huber y Vásquez (14) señalaron, para bosques de *Pinus radiata* de diferentes edades y manejos, intercepciones entre el 9% y 18% para el sur de Chile.

El escurrimiento fustal determinado como porcentaje de las precipitaciones incidentes, generalmente se ha considerado de poca importancia porque sus valores no sobrepasan el 12% en bosque de latifoliados y 6% en coníferas (11, 16, 17). Sin embargo, Oyarzún, Huber y Vásquez (14) obtuvieron en bosques de *P. radiata* valores entre 12% y 22 por ciento.

¹ Recibido para publicación el 15 de noviembre de 1988. Este trabajo ha sido financiado por los proyectos RS-85-14 de la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad Austral de Chile y 1040-85 del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología

* Instituto de Geociencias, Universidad Austral de Chile Casilla 567, Valdivia, Chile.

Los montos de agua interceptados por la hojarasca son poco conocidos, aunque se ha indicado que son de una magnitud mucho más pequeña que la interceptación del dosel y varían, generalmente, entre el 1% y el 5% de la precipitación total (11); sin embargo, Balazs (1) obtuvo valores de un 18% para *Larix decidua* y un 7% para rodales de *Fagus sylvatica*, *Abies alba* y *Picea*.

El presente trabajo tiene como finalidad establecer los montos de los diferentes componentes de la redistribución de las precipitaciones y determinar la influencia ejercida por las características de las precipitaciones en un bosque siempreverde en el sur de Chile.

MATERIALES Y METODOS

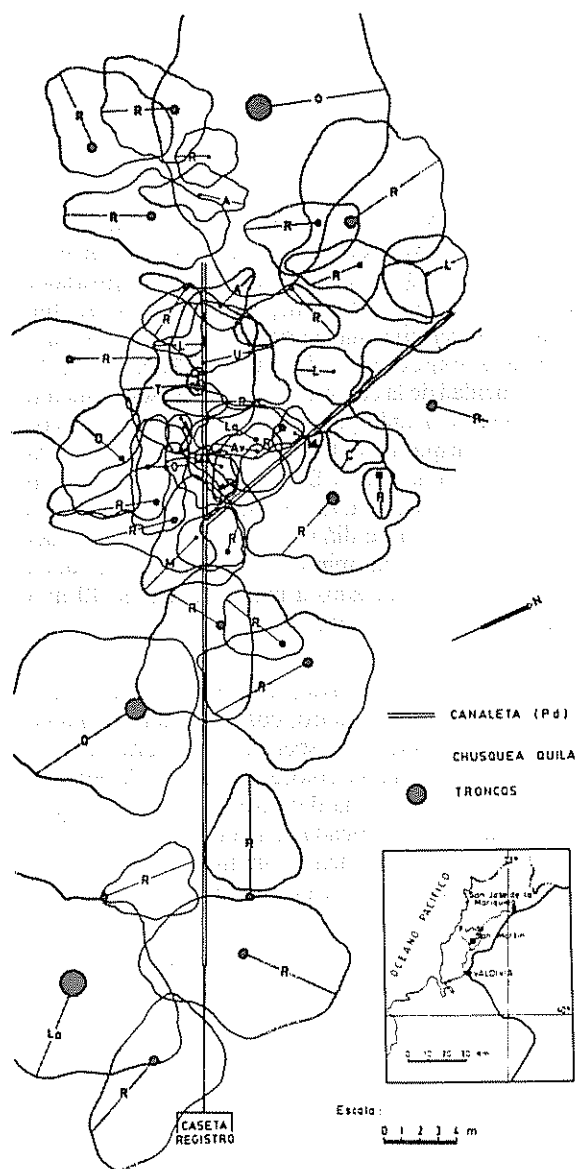
Area de estudio

El estudio se realizó en el fundo San Martín, ubicado a 25 km al noroeste de la ciudad de Valdivia, Chile (lat. 39°48'S; long. 73°14'O; altitud 10 msnm). El ecosistema forestal corresponde a una subasociación del bosque olivillo, denominada Lapagerio-Aextoxiconetum-Rigodietosum (4).

En este bosque se diferencian los siguientes pisos vegetacionales: estrato arbóreo superior, formado por *Nothofagus obliqua* y *Eucryphia cordifolia*, el cual alcanza hasta 45 m de altura; estrato arbóreo medio, con *Aextoxicon punctatum*, *Laurelia sempervivens*, *L. philippiana* y *Podocarpus salignus* entre 15 m y 30 m; estrato arbóreo inferior entre 10 m y 15 m integrado por *Drimys winteri*, *Gevuina avellana*, *Amomyrtus luma* y *Myrceugenella apiculata*. El estrato arbustivo está formado por *A. luma*, *Rhamnus difusus* y *Chusquea quila*. El suelo del bosque está cubierto por una capa de hojarasca de aproximadamente 3 cm de espesor y por *Rigodium implexum*. La cobertura media del estrato arbóreo es de un 94% (Fig 1).

La topografía del área estudiada se presenta prácticamente plana, con una pendiente inferior al 5 por ciento. Los suelos del sector corresponden a los denominados Trumaos, desarrollados a expensas de cenizas volcánicas y depósitos fluvio-glaciales (8).

La zona posee un clima templado lluvioso con influencia mediterránea (Cfsb según Koeppen), con temperatura en promedio de 12°C (oscilación anual de la temperatura entre 7°C y 17°C) y una precipitación de 2500 mm anuales. El mes más seco es enero con 60 mm y el más húmedo julio con 400 milímetros.



Leyenda:

- R: roble (*N. obliqua*).
- La: laurel (*L. sempervivens*).
- O: olivillo (*A. punctatum*).
- M: mañío (*P. salignus*).
- A: arrayán (*M. apiculata*).
- T: tepa (*L. philippiana*).
- Av: avellano (*G. avellana*).
- L: luma (*A. luma*).
- U: ulmo (*E. cordifolia*).
- C: canelo (*D. winteri*).

Fig 1. Cobertura de las copas del área estudiada y localización de la canaleta de precipitación directa

Métodos de medición

Las precipitaciones (P) se registraron con un pluviógrafo (Wilh. Lambrecht) instalado en una pradera situada a 150 m del lugar de estudio.

La precipitación directa (Pd) fue recogida en una canaleta metálica en forma de V, de 14 cm de ancho y 57 m de largo (Fig. 1), que desemboca en un registrador automático del nivel de agua, diseñado con ese fin. Este método permite una mejor integración de las fluctuaciones especiales de la Pd, debidas a la heterogeneidad de la cubierta vegetal. El escurrimiento fustal (pf) fue medido por medio de collares plásticos ajustados en espiral alrededor de los troncos, según la recomendación de Ford y Deans (5). La precipitación recogida de esta manera, fue conducida mediante tubos de PVC de 30 mm de diámetro a otro registrador del nivel de agua. Se determinó el escurrimiento fustal en todos los árboles ubicados a una distancia de 10 m a ambos lados de la canaleta.

La precipitación efectiva (Pe) se recogió en 20 bandejas de 30 cm de diámetro, con un fondo de malla, diseñadas y construidas especialmente para este estudio. Sobre la malla fue colocada una capa de hojarasca, simulando la cubierta del piso del bosque. Todas las bandejas estaban ubicadas a nivel del suelo y conectadas por vía subterránea a un tubo de PVC, que conducía el agua recogida a un recipiente calibrado.

La intercepción de las precipitaciones (In) por el dosel fue determinada a partir de la relación:

$$In = P - (Pd + Pf)$$

mientras que la intercepción (Ih) de la hojarasca se determinó:

$$Ih = Pn - Pe$$

donde Pn es la precipitación neta (Pd + Pf).

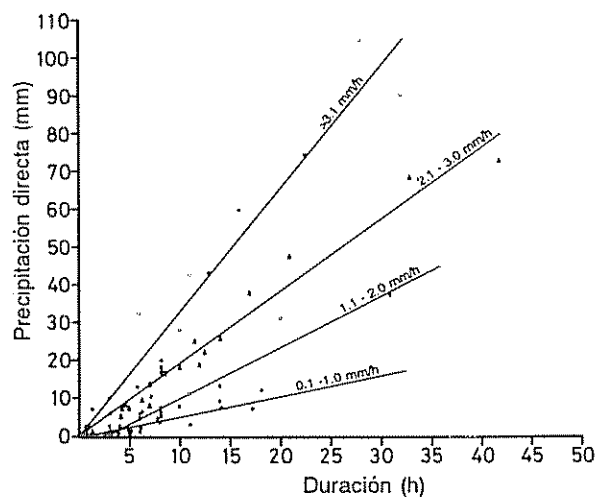
Para analizar estadísticamente las relaciones entre la Pd, escurrimiento fustal e intercepción con la intensidad, duración y montos de las precipitaciones, se consideraron solamente las precipitaciones continuas precedidas por un tiempo de al menos 18 h sin lluvia. Esta medida fue acordada para minimizar la influencia sobre los resultados que puede tener el agua adherida a las hojas, ramas y troncos de las precipitaciones precedentes. El período de mediciones se extendió entre enero de 1986 y diciembre de 1987.

RESULTADOS Y DISCUSION

Precipitación directa

La precipitación directa alcanzó valores de 69.9% y 68.5% con respecto de la precipitación incidente durante los dos años de estudio (Cuadro 1). La Pd, en general, presenta en su curso anual una tendencia similar a la precipitación incidente, alcanza los valores absolutos más altos durante los meses de invierno, sobrepasando el 75% de la precipitación. Los montos absolutos más bajos se registran durante los meses de verano, cuando gran parte de las lluvias incidentes son interceptadas debido a las características de duración e intensidad de las precipitaciones y a las condiciones meteorológicas, que favorecen la evaporación. Como consecuencia, la Pd representa sólo valores cercanos al 30% de la precipitación incidente durante algunos meses.

En la Fig. 2 y Cuadro 2 se presentan las relaciones entre la Pd y la duración e intensidad de las precipitaciones incidentes. Se puede observar que el comportamiento de los montos de la Pd se diferencian claramente según la intensidad de las lluvias (Fig. 2), existiendo una correlación significativa entre la duración e intensidad de las precipitaciones y la Pd (Cuadro 2). En general, con el aumento de la duración e intensidad de las lluvias, los montos de Pd también se



Leyenda:

- (\circ) 0.1 - 1.0 mm/h
- (\times) 1.1 - 2.0 mm/h
- (Δ) 2.1 - 3.0 mm/h
- (\square) 3.1 mm/h

Fig. 2 Relaciones entre precipitación directa y duración de las precipitaciones para diferentes rangos de intensidad de las lluvias

Cuadro 1. Precipitación (P), precipitación directa (Pd), escurrimiento fustal (Pf), precipitación neta (Pn), intercepción del dosel (IN) y hojarasca (Ih) y precipitación efectiva (Pe) en un bosque siempreverde del sur de Chile (Datos en milímetros y porcentajes entre paréntesis).

Meses	P	Pd	Pf	1986			
				Pn	In	Ih	Pe
Enero	63.8	21.1 (33.1)	0.3 (0.5)	21.4 (33.5)	42.4 (66.5)	2.5 (3.9)	18.8 (30.7)
Feb.	163.3	115.5 (70.7)	1.9 (1.2)	117.4 (71.9)	45.9 (28.1)	17.4 (10.7)	100.0 (61.2)
Marzo	117.3	79.1 (67.4)	1.2 (1.0)	80.3 (68.5)	37.0 (31.5)	9.4 (8.0)	70.9 (60.4)
Abril	303.4	191.5 (63.1)	3.6 (1.2)	195.1 (64.3)	108.3 (35.7)	23.9 (7.9)	171.2 (56.4)
Mayo	424.8	324.6 (76.4)	8.8 (2.1)	333.4 (78.5)	91.4 (21.5)	44.9 (10.6)	288.5 (67.9)
Junio	411.2	310.1 (75.4)	9.1 (2.2)	319.2 (77.6)	92.0 (22.4)	43.1 (10.5)	276.1 (67.1)
Julio	193.3	136.6 (70.7)	2.3 (1.2)	138.9 (71.9)	54.4 (28.1)	16.5 (8.5)	122.4 (63.3)
Agosto	498.8	379.4 (76.1)	8.9 (1.1)	388.3 (77.8)	110.5 (22.2)	43.1 (8.8)	345.2 (71.0)
Set.	138.3	86.7 (62.7)	0.8 (0.6)	87.5 (63.3)	50.8 (36.7)	10.6 (7.7)	76.9 (55.6)
Oct.	85.3	51.2 (60.0)	0.3 (0.4)	51.4 (60.3)	33.9 (39.7)	7.3 (8.6)	44.1 (51.7)
Nov.	291.5	190.5 (65.4)	4.5 (1.5)	195.0 (66.9)	96.5 (33.1)	20.9 (7.2)	174.1 (59.7)
Dic.	18.6	8.9 (47.8)	0.1 (0.5)	9.0 (48.4)	9.6 (51.6)	1.6 (8.6)	7.4 (39.8)
Total	2 709.6	1 895.2 (69.9)	41.8 (1.5)	1 936.9 (71.5)	772.7 (28.5)	241.2 (8.9)	1 695.7 (62.6)

1987							
Enero	17.8	9.3 (52.2)	0.0 (0.0)	9.3 (52.2)	8.5 (47.8)	3.1 (17.4)	6.2 (34.8)
Feb.	38.2	11.8 (30.9)	0.0 (0.0)	11.8 (30.9)	26.4 (69.1)	1.5 (3.9)	10.3 (27.0)
Marzo	76.3	52.3 (68.5)	0.3 (0.4)	52.6 (68.9)	23.7 (31.1)	8.2 (10.7)	44.4 (58.2)
Abril	170.5	107.8 (63.2)	1.0 (0.6)	108.8 (63.8)	61.7 (36.2)	12.4 (7.3)	96.4 (56.5)
Mayo	260.0	188.2 (72.4)	2.6 (1.0)	190.8 (73.4)	69.2 (26.6)	22.6 (8.7)	168.2 (64.7)
Junio	253.0	181.3 (71.7)	5.0 (2.0)	186.3 (73.6)	66.7 (26.4)	14.5 (5.7)	171.8 (67.9)
Julio	544.2	394.9 (72.6)	9.4 (1.7)	404.3 (74.3)	139.9 (25.7)	36.7 (6.7)	367.6 (67.5)
Agosto	280.6	187.7 (66.9)	3.2 (1.1)	190.9 (68.0)	89.7 (32.0)	18.4 (6.6)	172.5 (61.5)
Set.	233.6	172.3 (73.8)	2.7 (1.2)	175.0 (74.9)	58.6 (25.1)	19.7 (8.4)	155.3 (66.5)
Oct.	219.6	139.3 (63.4)	1.9 (0.9)	141.2 (64.3)	78.4 (35.7)	19.5 (8.9)	121.7 (55.4)
Nov.	70.6	45.9 (65.0)	0.4 (0.6)	46.3 (65.6)	24.3 (34.4)	8.9 (12.6)	37.4 (53.0)
Dic.	53.0	27.9 (52.6)	0.1 (0.2)	28.0 (52.8)	25.0 (47.2)	5.8 (10.9)	22.2 (41.9)
Total	2 217.4	1 518.7 (68.5)	26.6 (1.2)	1 545.3 (69.7)	672.1 (30.3)	171.3 (7.7)	1 374.0 (62.0)

Cuadro 2. Relaciones entre la precipitación directa (Pd) y duración de las precipitaciones (D) para diferentes rangos de intensidad de las precipitaciones.

Intensidad (mm/h)	Lluvias (núm.)	Ecuación		r
		Pd (mm)	D(h)	
0.1 - 1.0	22	Pd= 0.585	D - 1.303	0.936
1.1 - 2.0	16	Pd= 1.327	D - 3.345	0.950
2.1 - 3.0	20	Pd= 1.899	D - 0.230	0.983
>3.1	20	Pd= 3.281	D - 0.319	0.974

incrementan debido a que, una vez saturado el dosel, las pérdidas por interceptación se hacen menores y los montos de PD mayores.

La cantidad de agua que llega al suelo por medio de la Pd, va creciendo proporcionalmente con el aumento de la intensidad de las lluvias, como consecuencia de que bajo estas características las posibilidades de evaporación se reducen.

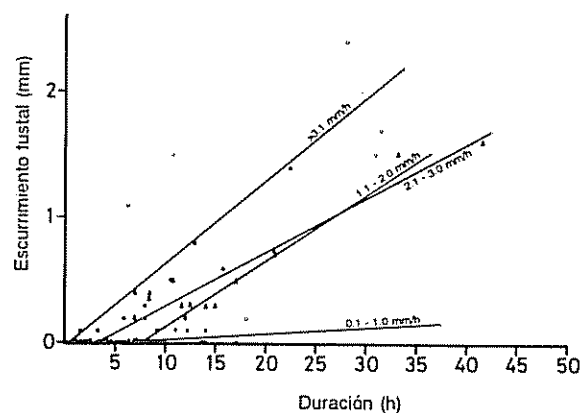
Escurrecimiento fustal

Las cantidades de agua que llegan al suelo por medio del escurrecimiento fustal en el bosque en estudio siguen la misma tendencia que el curso de las precipitaciones, alcanzando, por lo tanto, sus valores máximos durante los meses de invierno y los montos mínimos durante el verano (Cuadro 1).

El escurrecimiento fustal en este bosque siempreverde alcanzó valores de 1.5% y 1.2% durante los dos años de estudio, con respecto a la precipitación incidente. Estos valores pequeños están dentro de los rangos más bajos establecidos para bosques latifoliados (11). A pesar de que las ramas de los árboles son convergentes hacia el tronco, los escurrecimientos fustales son pequeños por la forma irregular de las ramas, lo cual obliga a que el agua escurra por ellas y se desprenda antes de alcanzar el fuste.

La cantidad de agua requerida para saturar los troncos, fue estimada con una regresión lineal entre el escurrecimiento fustal y la precipitación incidente con montos inferiores a 10 milímetros. Para evitar la posibilidad de errores en esta estimación, como consecuencia del agua retenida por los troncos por lluvias precedentes, sólo se consideraron precipitaciones que hubieran sido precedidas por un período de 24 h sin precipitaciones (3). La capacidad de saturación de los troncos fue de 5.1 milímetros.

En la Fig. 3 y Cuadro 3 se presenta el efecto que ejerce la duración y la intensidad de las precipitaciones sobre los montos de escurrecimiento fustal. En general, con precipitaciones de baja intensidad (0.1 y 1.0 mm) el escurrecimiento fustal existe y sólo se manifestó en lluvias con duraciones superiores a las 15 h (Fig. 3), porque las débiles precipitaciones requieren un tiempo prolongado para saturar de agua la corteza de los troncos y permitir así su inicio. A medida que aumenta la intensidad de las precipitaciones, el retraso del inicio del escurrecimiento fustal se hace cada vez menor. En precipitaciones cuya intensidad es superior a 3.0 mm/h, el escurrecimiento fustal se manifiesta después de media hora de iniciada la precipitación (Fig. 3). Bajo estas circunstancias y debido a la alta intensidad de la precipitación, el escurrecimiento fustal se hace presente aun antes de que la corteza de los troncos se sature.



Leyenda:

- (*) 0.1 - 1.0 mm/h
- (x) 1.1 - 2.0 mm/h
- (Δ) 2.1 - 3.0 mm/h
- (○) > 3.1 mm/h

Fig 3 Relaciones entre escurrecimiento fustal y duración de las precipitaciones para diferentes rangos de intensidad de las lluvias

Cuadro 3. Relaciones entre el escurrimiento fustal (Pf) y duración de las precipitaciones (D) para diferentes rangos de intensidad de las precipitaciones.

Intensidad (mm/h)	Lluvias (núm.)	Ecuación		r
		Pf (mm)	D(h)	
0.1 - 1.0	22	Pf= 0.005	D - 0.019	0.553
1.1 - 2.0	16	Pf= 0.052	D - 0.398	0.912
2.1 - 3.0	20	Pf= 0.043	D - 0.141	0.956
>3.1	20	Pf= 0.066	D - 0.027	0.879

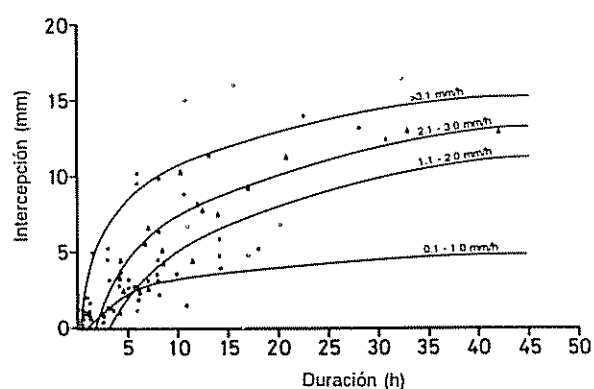
Intercepción del dosel

La intercepción representó el 28.5% y 30.0% de las precipitaciones incidentes, durante los años de estudio (Cuadro 1). Se pueden explicar estos altos valores por la gran estratificación y altura del bosque, por la cantidad de musgos y líquenes adheridos a las ramas y troncos y por la densidad de su sotobosque.

El curso anual de los valores porcentuales de la intercepción es inversamente proporcional a las cantidades de precipitación incidente, ocurriendo los valores mínimos durante los meses de invierno mientras que los máximos se registran en verano.

La capacidad de saturación de las copas, determinada a partir de una regresión lineal entre la precipitación directa y la incidente, fue de 2.1 milímetros. Este valor es similar al obtenido por Oyarzún, Huber y Vásquez (14) que fue de 2.2 mm para un bosque adulto de *P. radiata* situado en las cercanías del lugar de estudio y a los encontrados por Helvey y Patric (7) y por Zinke (18), para varias especies de coníferas y latifoliadas.

La Fig. 4 y el Cuadro 4 muestran las ecuaciones que indican las relaciones entre intercepción, duración e intensidad de las precipitaciones. En general se pudieron establecer altas correlaciones entre ellas. De la Figura 4 se deduce que cuanto mayor es la intensidad de las precipitaciones, mayores son las cantidades de agua retenida por el dosel y troncos que son devueltas a la atmósfera por evaporación. En estas condiciones de intensidad de la precipitación, el tiempo en que la lluvia queda retenida por las copas es mayor, por lo tanto está expuesta, con mayor posibilidad, a ser evaporada. También se puede observar (Fig. 4) que a



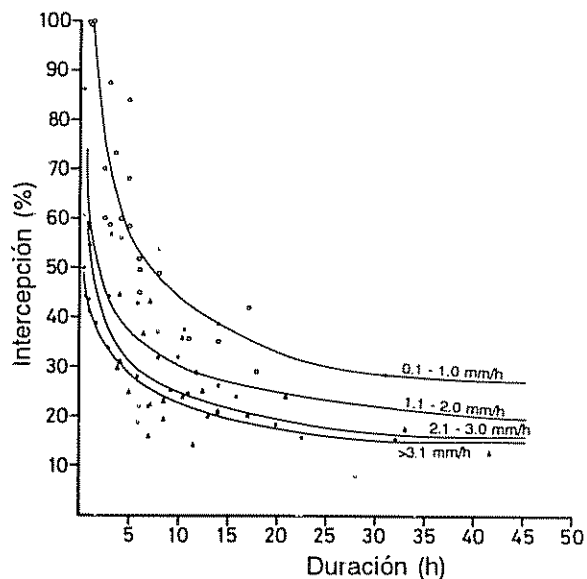
Leyenda:

- (*) 0.1 - 1.0 mm/h
- (x) 1.1 - 2.0 mm/h
- (Δ) 2.1 - 3.0 mm/h
- (Δ) 3.1 mm/h

Fig 4 Relaciones entre intercepción (mm) y duración (h) de las precipitaciones par diferentes rangos de intensidad de las lluvias.

medida que aumenta la duración de las precipitaciones, los montos de intercepción tienden a mantenerse constantes.

En un procedimiento similar, en el que se expresó la intercepción como porcentaje de la precipitación incidente, se encontraron relaciones significativas entre la duración e intensidad de las precipitaciones y la intercepción (Fig 5 y Cuadro 5). La intercepción disminuye porcentualmente cuando la duración y la intensidad aumentan. También se puede advertir que en cuanto aumenta la duración de las precipitaciones, los porcentajes de intercepción tienden a estabilizarse en valores entre el 15% y el 25% de la precipitación incidente (Fig. 5).



Leyenda:

- (○) 0.1 - 1.0 mm/h
- (x) 1.1 - 2.0 mm/h
- (Δ) 2.1 - 3.0 mm/h
- (·) 3.1 mm/h

Fig. 5. Relaciones entre intercepción (%) y duración (h) de las precipitaciones para diferentes rangos de intensidad de las lluvias.

Intercepción de la hojarasca

Los montos anuales de intercepción de la hojarasca representan el 8.9% y 7.7% de la precipitación incidente durante los dos años de observaciones (Cuadro 1). Estos valores son mayores a los informados por Helvey y Patric (7) para bosques latifoliados en EE.UU. y de Mitscherlich (12) en Alemania para coníferas. Ello se puede atribuir a la gruesa capa de hojarasca que posee este bosque. Balazs (1) obtiene resultados similares, recalcando que la intercepción de la hojarasca en bosques jóvenes de *Picea* es menor que en la de adultos. Esta equivale casi a la cuarta parte del valor de la intercepción de las copas y troncos, lo que concuerda con los resultados de Hädrich y Heuveldop (6) que expresan que la intercepción de la hojarasca está siempre por debajo del 50% de la intercepción de las copas. Al igual que la del dosel de la hojarasca posee un curso anual regulado, principalmente, por los montos de las precipitaciones y el grado de saturación de la hojarasca.

Precipitación efectiva

La cantidad de agua que alcanzó efectivamente la superficie del suelo del bosque es de aproximadamente 62% en los dos años. Como consecuencia de los diferentes porcentajes interceptados por las copas, troncos y la capa de hojarasca que cubren el suelo durante

Cuadro 4: Relaciones entre la intercepción (In) y duración de las precipitaciones (D) para diferentes rangos de intensidad de las precipitaciones.

Intensidad (mm/h)	Lluvias (núm.)	Ecuación		r
		In (mm)	D(h)	
0.1 - 1.0	22	$In = 0.066 + 1.347 \ln D$		0.830
1.1 - 2.0	16	$In = 4.805 + 4.301 \ln D$		0.798
2.1 - 3.0	20	$In = 1.990 + 4.065 \ln D$		0.835
>3.1	20	$In = 3.450 + 3.117 \ln D$		0.883

Cuadro 5: Relaciones entre la intercepción (In) y duración de las precipitaciones (D) para diferentes rangos de intensidad de las precipitaciones.

Intensidad (mm/h)	Lluvias (núm.)	Ecuación		r
		In (%)	D (h)	
0.1 - 1.0	22	$In = 107.09$	$D = 0.3883$	0.904
1.1 - 2.0	16	$In = 56.69$	$D = 0.2849$	0.446
2.1 - 3.0	20	$In = 51.89$	$D = 0.3206$	0.701
>3.1	20	$In = 45.61$	$D = 0.3030$	0.881

el año, los porcentajes de precipitación que efectivamente llegan al suelo están afectados también a un curso anual (Cuadro 1). Durante los meses con escasas lluvias, la precipitación efectiva alcanza sus valores absolutos y relativos más bajos del año. Si se considera que este período concuerda con el de mayor gasto de agua por transpiración, se puede deducir que el suelo verá reducidas sus reservas de agua en forma importante hasta el próximo período de recarga.

CONCLUSIONES

Las pérdidas por intercepción del dosel y de la hojarasca en un bosque siempreverde del sur de Chile fueron estimadas en un 29.3% y 8.3% de las precipitaciones que caen sobre las copas. Estos altos valores de intercepción se pueden atribuir a la gran estratificación y altura del bosque, la gran densidad de su sotobosque y a la gruesa capa de hojarasca.

La precipitación directa fue el aporte más importante de agua al suelo y representó el 69.2% de la precipitación incidente. El escurrimiento fustal fue solamente del 1.4%, estando dentro de los rangos más bajos establecidos para bosques de latifoliadas.

Los valores estimados de la capacidad de saturación del dosel y de los fustes fueron de 2.1 mm y 5.1 mm, respectivamente.

Los montos de precipitación directa y escurrimiento fustal se diferenciaron claramente según la duración e intensidad de las precipitaciones, estableciéndose relaciones significativas con estos parámetros. En general, a medida que aumentan la duración e intensidad de las precipitaciones, las cantidades de precipitación directa y escurrimiento fustal también crecen.

Además se encontraron relaciones significativas entre la duración e intensidad de las lluvias y las pérdidas por intercepción del dosel. La intercepción disminuye porcentualmente con el aumento de la duración e intensidad de las precipitaciones.

LITERATURA CITADA

- BALAZS, A. 1982. Interzeptions-verdunstung des waldes im interhalbjahr als Bestimmungsrösse des nutzbaren Wasserdargebotes. Beiträge zur Hydrologie 4:79-101
- BRECHTEL, H.M.; PABLOV, M.B. 1977. Niederschlagsbilanz von Waldbeständen verschiedenen Baumarten und Altersklassen in der Rhein-Main-Ebene. Kuratorium für Wasser und Kulturbauwesen (KWK), Bonn
- CALHEIROS DE MIRANDA, R.A.; BUTLER, D.R. 1986. Interception of rainfall in a hedgerow apple orchard. Journal of Hydrology 87:245-253.
- CARDENAS, R. 1976. Flora y vegetación del fundo San Martín. Tesis. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias 96 p
- FORD, E.D.; DEANS, J.D. 1976. The effects of canopy structure on stemflow, throughfall and interception loss in a young Sitka spruce plantation. Journal of Applied Ecology 15:905-917.
- HADRICH, F.; HEUVELDOP, J. 1987. Untersuchung Zur Bodenverdunstung in einem Waldbestand. APJZ 149:1-18
- HIELVEY, J.D.; PATRIC, J.H. 1965. Canopy and litter interception of rainfall by hardwoods of eastern United States. Water Resources Research 1:193-206
- IREN-CORFO. 1974. Estudio integrado de los recursos naturales renovables: Provincia de Valdivia. Santiago, Chile. 195 p.
- JACKSON, D.K. 1971. The effects of drought on the growth and water balance of *Colium perenne* and *Dactylis glomera*. Thesis. University of London.
- JARO, Z. 1981. Intercepción Gödöllöi Kulturerdei Okosizistémákban. Erdő és víz, Veszprém. p. 46-45.
- LEE, R. 1980. Forest hydrology. New York, Columbia University Press.
- MITSCHEHLICH, G. 1971. Wald, Wachstum und Umwelt 2 ed. Waldklima und Wasserhaushalt. J.D. Sauerländer, A.M. Frankfurt (Eds.). 365 p.
- OVINGTON, J.D. 1954. A comparison of rainfall in different woodlands. Forestry 27:41-53.
- OYARZUN, C.; VASQUEZ, S. 1985. Balance hídrico en tres plantaciones de *Pinus radiata*. I. Redistribución de las precipitaciones. Bosque 6(1):3-14.
- PREBBLE, R.E.; STIRK, G.B. 1980. Throughfall and stemflow on silverleaf ironbark (*Eucalyptus melanophloia*) trees. Australian Journal of Ecology 5:419-427.
- PRICE, N.W. 1982. A comparison of water balance components in natural and plantation forest in El Salvador, Central America. Turrialba 32(4):399-416
- RONE, L.K. 1975. Rainfall interception by mountain beech. New Zealand Journal of Forestry Science 5(1):45-61.
- ZINKE, P.J. 1976. Forest interception studies in United States. In International Symposium on Forest Hydrology. W.A. Sopper, H.W. Lull (Eds.). Oxford, Pergamon Press p. 137-161.

Estudos Histológicos de Tratamentos pelo Calor nas Expressões de Suscetibilidade e Resistência na Interacção *Coffea arabica* - *Hemileia vastatrix*¹

M. C. Silva*, L. Rijo*, C. J. Rodrigues Jr.*, M. I. Vasconcelos*

ABSTRACT

Plants of *Coffea arabica* bearing the homozygous genes SH₄SH₅, heat treated on different occasions before inoculation with virulent and avirulent races of *Hemileia vastatrix*, were studied histologically. The pre-inoculation heat treatment of coffee leaves induced an increase in the number of appressoria formed and the subsequent colonization of the fungus. This resulted in an increase of susceptibility to the compatible interaction. In the incompatible interaction, most of the infections sporulated and no lignification of the cells occurred as a response to the presence of the fungus; the resistance expression was thus reversed.

INTRODUÇÃO

O ambiente tem uma influência importante nas interacções hospedeiro-agente patogénico (2, 5, 26) podendo influenciar o processo de infecção, a taxa de crescimento do parasita e os mecanismos genéticos associados á resistência/susceptibilidade da planta hospedeira (2). Na interacção *Triticum* spp. - *P. graminis tritici*, Roelfs (26) refere que a temperatura e a luz podem afetar suficientemente o tipo de infecção, daí resultando uma inversão da dominância, sendo o genótipo heterozigótico do hospedeiro muitas vezes mais afetado pelos fatores ambientais do que o genótipo homozigótico. Também Eskes (11) na interacção cafeeiro-ferrugem alaranjada defende que o ambiente afeta a expressão do gene de resistência SH₄. Assim,

RESUMO

Estudou-se histologicamente a acção de tratamentos pelo calor em plantas de *Coffea arabica*, portadoras dos genes de resistência SH₄SH₅ (em estado homozigótico) antes da sua inoculação com uma cultura virulenta e outra avirulenta de *Hemileia vastatrix*. A acção dos tratamentos pelo calor, pré-inoculação, traduziu-se num aumento da formação de appressórios e da subsequente colonização do fungo, do que resultou, na interacção compatível, um aumento de susceptibilidade. Na interacção incompatível, a maioria das infecções conseguiu esporular, sendo também de destacar a ausência de lenhificação das células em resposta á presença do fungo, verificou-se assim uma inversão na expressão de resistência.

refere que em estufa (baixa intensidade luminosa) a acção deste gene é dominante, mas que em viveiro (alta intensidade luminosa) se observa dominância incompleta expressa por um tipo de reacção heterogénea a susceptível em plantas heterozigóticas (SH₄SH₄).

A temperatura tem sido o fator ambiental mais estudado, havendo diversas referências na literatura mostrando que tratamentos com diferentes regimes de temperatura podem alterar, quer a expressão de susceptibilidade quer a de resistência. A título de exemplo, é de referir os tratamentos com calor ("heat shock") que, quando efectuados antes da inoculação podem aumentar a susceptibilidade das plantas a microrganismos, nomeadamente a fungos patogénicos (13, 14, 18, 23, 24, 25, 36, 37) e não patogénicos (3, 4).

No presente trabalho efectuou-se também o estudo do fator temperatura em duas interacções, uma compatível e outra incompatível da associação cafeeiro-ferrugem tendo-se analisado respectivamente as modificações na resposta de susceptibilidade e na de resistência de folhas tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação, em comparação com as respectivas testemunhas. As primeiras observações incidiram sobre as fases de pré-penetração do fungo (germinação e formação de appressórios) tendo-se posteriormente estudado o processo de colonização do fungo (crescimento micelial e número de haustórios/infecção) até

1 Recebido para publicação em 11 setembro 1991.
Ao Prof. João Tiago Mexia e á En. Mo. José Silva dos Serviços de Estatística do Centro de Estudos de Produção e Tecnologia Agrícola os nossos agradecimentos pelo auxílio prestado na análise estatística dos resultados deste trabalho. Parte deste trabalho está incluído na dissertação do primeiro autor para obtenção do grau de Mestrado em Produção Vegetal (Instituto Superior de Agronomia-Universidade Técnica de Lisboa)

* Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, Quinta do Marquês, 2780 Oeiras, Portugal.

ao aparecimento dos sintomas. Quando se estudou a interação incompatível foi dada também atenção à resposta do hospedeiro, diferentes técnicas citológicas permitiram avaliar as alterações nos mecanismos de resistência resultantes do tratamento com calor.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas e ferrugem

Usaram-se plantas de *Coffea arabica* L. (CIFC 110/5-portadoras dos genes de resistência SH₄SH₅ em estado homozigótico) originárias da Etiópia e mantidas em condições de estufa. Utilizaram-se uredósporos frescos de *H. vastatrix* Berk & Br. das culturas 137a da raça X (genes de virulência v₁v₄v₅) e 1427 da raça II (gene de virulência v₅) provenientes respectivamente das Filipinas e do Quênia.

Tratamentos com calor

Em pares de folhas opostas, um dos pares foi mergulhado num banho de água quente (50°C) durante 1 min, sendo o outro par deixado como testemunha. Logo que as folhas tratadas secaram procedeu-se à sua inoculação.

Inoculação e incubação

Folhas novas e suculentas próximas do seu tamanho definitivo foram inoculadas de acordo com a técnica descrita por D'Oliveira (7) e D'Oliveira & Rodrigues (8). A quantidade de inóculo usada foi de 0.5 mg/folha.

Germinação "in vivo" e formação de apressórios

Foi seguida a técnica de moldes de verniz descrita por Silva *et al.* (28) tendo sido determinadas as percentagens de germinação e de apressórios em folhas tratadas pelo calor e nas testemunhas.

Processo de colonização do fungo

Usou-se a técnica descrita por Rijo & Rodrigues (21) que consistiu em seccionar fragmentos de folha com um micrótomo de congelação após o que esses cortes foram corados e montados numa mistura clara de azul de algodão em lactofenol.

Para observação do processo de colonização do fungo, acompanhou-se a sua evolução no interior das folhas, de cada um dos cafeeiros em estudo, a partir do 3.º dia após a inoculação. Com uma ocular micrométrica mediu-se o comprimento do conjunto das

hifas que constituem a massa micelial, em cada infecção, tendo-se também determinado o número de haustórios. Para obtenção do valor médio destes parâmetros consideraram-se no mínimo 50 infecções em cada dia de observação. Estas determinações foram também efectuadas no 6.º dia após a inoculação e não posteriormente porque, exceptuando os casos de paragem de crescimento do fungo, a ramificação cada vez maior do micélio tornou difícil a individualização das infecções.

Respostas à presença do fungo

Usaram-se os seguintes testes citológicos:

- Teste de fluorescência com azul de anilina. Cortes transversais de material fresco foram colocados em tampão fosfato (K₂HPO₄) 0.07 M, pH 8.9 durante 10 min e mergulhados, em seguida, 10-15 min numa solução de azul de anilina a 0.01% no mesmo tampão, onde foram também montados (22). Os depósitos de calose foram identificados pela sua fluorescência amarelo-brilhante (10).
- Teste de autofluorescência. Cortes transversais de fragmentos de tecido fresco foram montados em água ou tampão fosfato (K₂HPO₄) 0.07 M, pH 8.9 e observados ao microscópio de fluorescência.
- Teste com HCL- floroglucinol. Em cortes transversais de material fresco fez-se o teste com HCL- floroglucinol (15) seguindo a técnica descrita por Sherwood & Vance (27) como em trabalhos realizados anteriormente na interação cafeeiro-ferrugem alaranjada (17, 22, 34).
- Todas as observações microscópicas foram efectuadas num microscópio Leitz Dialux 20 equipado com uma lâmpada de mercúrio HBO 50W, luz ultravioleta (Excitação 340-380, filtro barreira 430).

Produção de uredósporos (na interação compatível)

Em cada folha inoculada, cerca de um mês e meio após a inoculação, colheram-se os uredósporos produzidos com uma cápsula de gelatina tendo-se então efectuado a pesagem numa balança de precisão.

Análise estatística

Efectuaram-se análises de variância, tendo sido os dados transformados quando se avaliaram as percentagens de germinação "in vivo" e de apressórios. Quando se estudou o processo de colonização do fungo nas primeiras fases do processo de infecção, para se efectuar a comparação das médias usou-se o teste de Tukey.

RESULTADOS

Inoculação de plantas 110/5 com a cultura 137a de *H. vastatrix*- interação compatível

Percentagem de germinação "in vivo" e de apressórios. Nas folhas tratadas em comparação com as testemunhas não se obtiveram diferenças significativas na percentagem de germinação. Porém, a percentagem de apressórios formados foi significativamente maior nas folhas tratadas (Quadro 1).

Processo de colonização do fungo. O valor médio do comprimento micelial/infecção (Quadro 2) foi significativamente maior nas folhas tratadas em

comparação com as testemunhas, no. 3.º e 6.º dias após a inoculação.

Quando se considerou o número médio de haustórios/infecção (Quadro 3) aos 3 dias após a inoculação, as folhas tratadas não se diferenciaram das testemunhas, porém, aos 6 dias esse valor foi significativamente maior nas folhas tratadas.

Sintomas. Avaliaram-se os seguintes parâmetros:

- Aparecimento dos primeiros sintomas (cloroses): Observou-se em média aos 12.5, 16.5 dias após a inoculação respectivamente nas folhas tratadas e nas testemunhas que assim se diferenciaram entre si [(F=39.1) (P 0.001)].

Quadro 1. Percentagem de germinação e de apressórios da cultura 137a em folhas de 110/5 (interação compatível) tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação e nas testemunhas.

Parâmetros	Folhas tratadas (50°C, 1 min)	Testemunhas	F calculado
Germinação (%)	55.10 A (0.84)	54.21 (0.83)	0.17 n.s.
Apressórios (%)	64.05 (0.93)	48.79 (0.77)	28.29 ***

A- Os valores entre parêntesis correspondem a $\arcsin \sqrt{\%}$ e estão expressos em radianos.

Níveis de significância: n.s. (não significativo), *** (P ≤ 0.001)

Quadro 2. Comprimento micelial médio/infecção (cultura 137a) em folhas de 110/5 (interação compatível) tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação e nas testemunhas, aos 3 e 6 dias após a inoculação.

Dias após inoc.	Comprimento micelial medio (μ m)/infecção		F calculado
	Folhas tratadas (50°C; 1 min)	Testemunhas	
3	93.15 A (24-234 ± 54.07)	61.15 (21-144 ± 36.83)	4.64*
6	215.70 (24-414 ± 109.29)	104.55 (24-390 ± 100.04)	11.33**

A: (menor e maior valores do parâmetro; ± desvio padrão)

Níveis de significância: * (P ≤ 0.05) ** (P ≤ 0.01)

Quadro 3. Número médio de haustórios/infecção (cultura 137a) em folhas de 110/5 (interação compatível) tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação e nas testemunhas, aos 3 e 6 dias após a inoculação.

Dias após inoc.	Nº médio de haustórios/infecção		F calculado
	Folhas tratadas (50°C; 1 min)	Testemunhas	
3	1.70 A (0.5 ± 1.60)	1.00 (0.4 ± 1.34)	2.27 n.s.
6	2.75 (0.5 ± 1.33)	1.30 (0.4 ± 1.42)	11.11**

A: (menor e maior valores do parâmetro; ± desvio padrão)

Níveis de significância: n.s. (não significativo); ** ($P \leq 0.01$)

- Início da esporulação: Ocorreu também significativamente mais cedo nas folhas tratadas do que nas testemunhas, sendo os valores médios respectivamente de 24 e 27.5 dias após a inoculação [(F=41.46) (P 0.001)].
- Produção de uredósporos: Nas folhas tratadas a produção média de uredósporos (7.94 mg/folha) foi significativamente superior á que se verificou nas testemunhas (2.51 mg/folha) - [(F=52.16) (P 0.001)].

Inoculação de plantas 110/5 com a cultura 1427 de *H. vastatrix*-interação incompatível

Percentagem de germinação "in vivo" e de apressórios. Nas folhas tratadas comparativamente as testemunhas (Quadro 4) não se obtiveram diferenças

significativas na percentagem de germinação. No entanto, a percentagem de apressórios foi significativamente maior nas folhas tratadas.

Processo de colonização do fungo. O valor médio do comprimento micelial/infecção (Quadro 5) foi significativamente maior nas folhas tratadas em comparação com o observado nas testemunhas, no 3.º e no 6.º após a inoculação. O mesmo se verificou em relação ao número médio de haustórios/infecção (Quadro 6).

Nesta interação incompatível, a partir do 3.º dia após a inoculação começaram a observa-se infecções abortadas mostrando micélio com aspecto definhado ou entumescido. No entanto, é de destacar o facto de nas folhas tratadas a maioria das infecções ter evoluído com bom crescimento chegando mesmo a originar esporulação (Figs. 1, 2, 3, 4).

Quadro 4. Percentagem de germinação e de apressórios da cultura 1427 em folhas de 110/5 (interação incompatível) tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação e nas testemunhas.

Parâmetros	Folhas tratadas (50°C, 1 min)	Testemunhas	F calculado
Germinação (%)	54.60 A (0.83)	53.60 (0.82)	0.18 n.s.
Apressórios (%)	77.70 (1.08)	42.30 (0.71)	203.86 ***

A- Os valores entre paréntesis correspondem a $\text{arc sen } \sqrt{\%}$ e estão expressos em radianos.

Quadro 5. Comprimento micelial médio/infecção (cultura 1427) em folhas de 110/5 (interação incompatível) tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação e nas testemunhas, aos 3 e 6 dias após a inoculação.

Dias após inoc.	Comprimento micelial medio (μm)/infecção		F calculado
	Folhas tratadas (50°C; 1 min)	Testemunhas	
3	116.76 A (15-264 \pm 60.48)	61.92 (15-219 \pm 53.85)	11.46**
6	221.76 (15-693 \pm 155.46)	81.00 (10-357 \pm 74.34)	16.68***

A: (menor e maior valores do parâmetro; \pm desvio padrão)

Níveis de significância: ** ($P \leq 0.01$) *** ($P \leq 0.001$)

Quadro 6. Número médio de haustórios/infecção (cultura 1427) em folhas de 110/5 (interação incompatível) tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação e nas testemunhas, aos 3 e 6 dias após a inoculação.

Dias após inoc.	Nº médio de haustórios/infecção		F calculado
	Folhas tratadas (50°C; 1 min)	Testemunhas	
3	2.56 A (0-4 \pm 1.16)	1.12 (0-3 \pm 1.24)	18.08***
6	3.84 (0-8 \pm 2.21)	1.48 (0-5 \pm 1.64)	18.40***

A: (menor e maior valores do parâmetro; \pm desvio padrão)

Níveis de significância: *** ($P \leq 0.001$)

Sintomas. Nas folhas testemunha os sintomas traduziram-se por pountuações cloróticas com tumefacções, *flt*, que se começaram a observar aos 9-10 dias após a inoculação.

Nas folhas tratadas, raramente se observaram *flt* sendo a expressão fenotípica predominante de susceptibilidade, tendo-se registado o "início" da esporulação aos 23-25 dias após a inoculação. A queda prematura das folhas não permitiu avaliar o montante de esporulação produzido.

Formação de lenhina e de calose. No. Quadro 7 estão indicados os resultados de testes citológicos efec-

tuados para avaliar a resposta de folhas tratadas e respectivas testemunhas á presença do fungo.

Nas testemunhas, os *flt* corresponderam a células do parênquima lacunoso com maior volume (cujas paredes apresentaram maior ou menor grau de espessamento) em redor de infecções abortadas em diferentes fases. Nesta reacção, observou-se lenhina nas células da zona estomática e nas paredes espessadas (por vezes também nos conteúdos citoplasmáticos) das células que constituíram a tumefacção. A calose foi outro composto detectado em células do hospedeiro nas zonas de contacto com a hifa abortada e em redor dos haustórios.

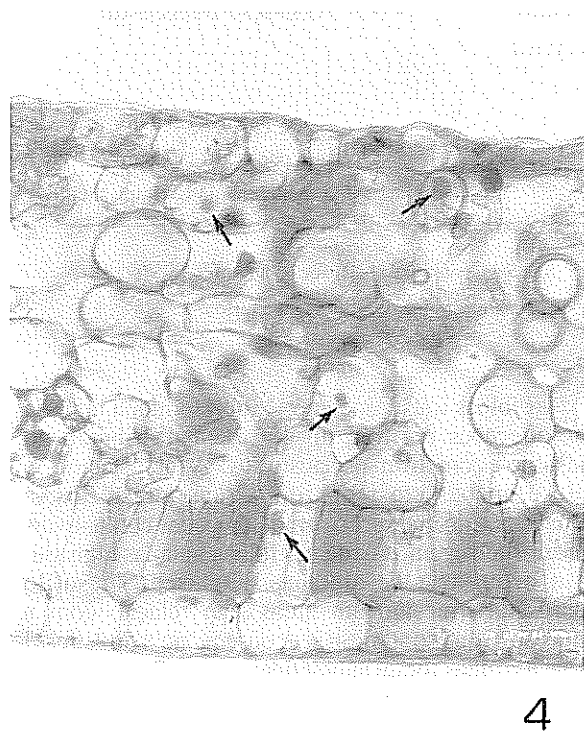
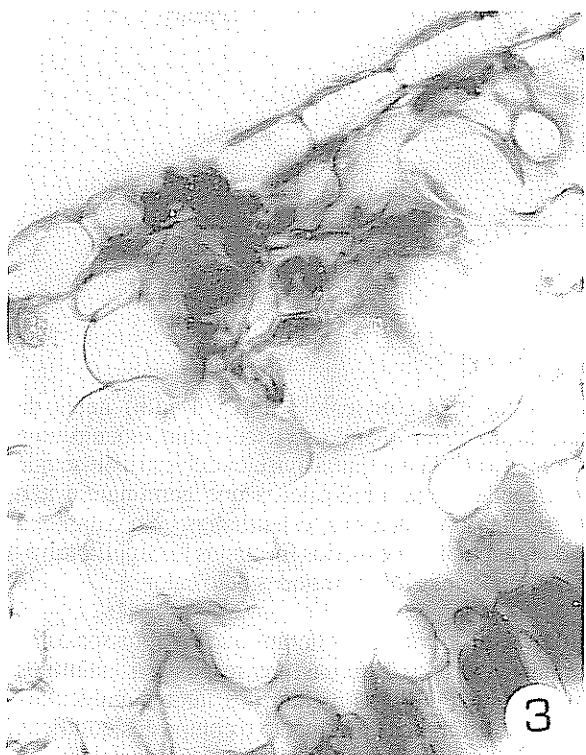
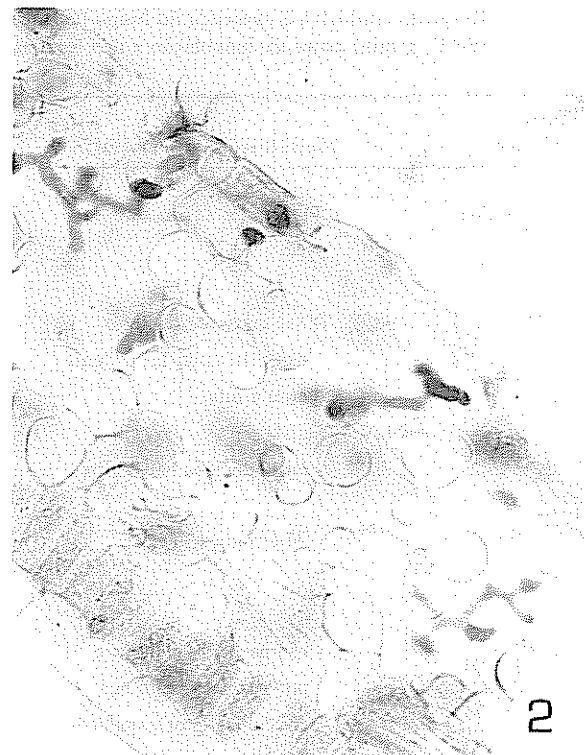
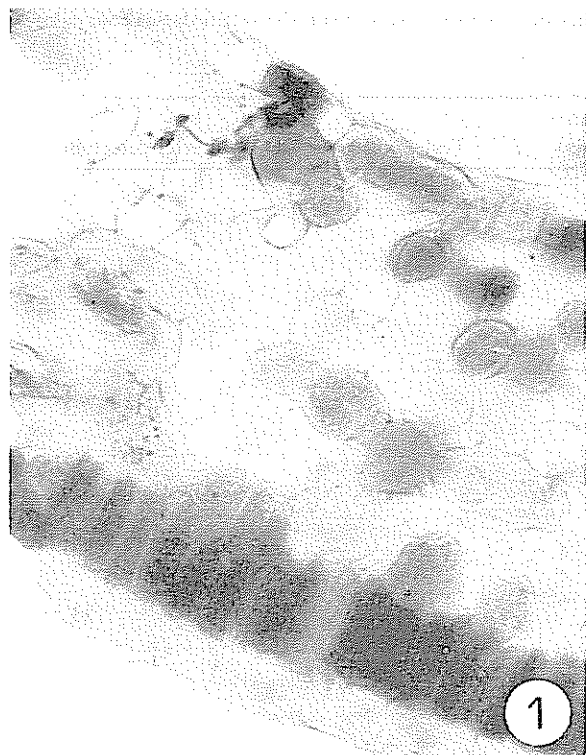


Fig. 1. Testemunha: Micélio abortado no mesófilo, 8 dias após a inoculação (x 400).

Fig. 2. Folha tratada (50°C; 1 min): Várias infecções com micélio bem distribuído. 8 dias após a inoculação (x 400).

Fig. 3. Testemunha: Micélio senescente e células em redor com paredes espessadas. 20 dias após a inoculação (x 400).

Fig. 4. Folha tratada (50°C; 1 min): Micélio bem desenvolvido em todo o mesófilo com haustórios (setas), 20 dias após a inoculação (x 400).

Quadro 7. Resposta citológica à presença do fungo (cultura 1427) em folhas de I10/5 (interação incompatível) tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação e nas testemunhas.

Teste citológicos	Modificações observadas	Folhas tratadas (50°C; 1 min)	Testemunhas	Material detectado
Azul de anilina	Fluorescência amarelo-brilhante:			Calose
(luz UV)	- nas zonas de contacto das células do hospedeiro com a hifa	-	+	
	- em redor dos haustórios	+(a)	+	
Fluorescência	- Autofluorescência:			Lenhina ou compostos afins
(luz UV)	- nas paredes celulares e por vezes também nos conteúdos citoplasmáticos	-	+	
HCL-flo-roglucinol	Coloração avermelhada:			Lenhina
	- nas paredes celulares e por vezes também nos conteúdos citoplasmáticos	-	+	

+ Reacção positiva; - Reacção negativa.

(a) apenas em redor de alguns haustórios.

Nas folhas tratadas, como já foi referido, a maioria das infecções mostrou micélio bem distribuído no mesófilo e com diversos haustórios. Aqui, detectou-se calose apenas em redor de alguns haustórios, á semelhança do que sucede em interacções compatíveis cafeeiro-ferrugem. Ainda nas folhas tratadas registou-se a ocorrência de algumas células do mesófilo necrosadas, mesmo em áreas sem relação com a infecção, o que se admitiu ser consequência do "stress" a que as folhas foram submetidas.

DISCUSSAO DOS RESULTADOS E CONCLUSOES

Quando, ao estudar o afeito do fator temperatura, se analisaram as fases de pré-penetração do fungo em

folhas tratadas com calor (50°C, 1 min) antes da inoculação (quer quando se usou como inóculo uma cultura virulenta quer uma avirulenta) verificou-se que a percentagem de uredósporos que germinaram não diferiu da observada nas testemunhas. No entanto, a percentagem de apressórios formados foi significativamente maior nas folhas tratadas pelo calor.

Diversas teorias consideram que os apressórios se formam sobre os estomas em resposta a estímulos diversos incluindo, para além dos fatores ambientais externos, estímulos de contacto e compostos químicos específicos, tudo indicando que os estímulos efectivos podem variar em diferentes ferrugens (35). De acordo com Littlefield & Heath (16), para diversas ferrugens são as respostas da topografia da folha que resultam no crescimento direccionado do tubo germinativo para o

estoma e o seu subsequente "reconhecimento" de modo a que sobre ele se forme então o apressório. Também Wynn (35) defende que a formação de apressórios de *U. phaseoli* (Pers.) Wint. var. *typica* (Arth.) no hospedeiro ocorre sómente em resposta a estímulos de contacto, o mesmo sendo referido por Staples *et al.* (30) em relação à ferrugem do trigo, *P. graminis tritici*.

Por sua vez, em folhas de cana-do-açúcar Sotomayor *et al.* (29) consideram ser as células guardas ou o próprio estoma que fornecem os estímulos de contacto necessários à formação dos apressórios de *P. melanocephala* H.Syd & P. Syd. Ainda em relação à *P. graminis tritici*, Allem (1) defende que o ambiente químico em redor do estoma pode ser igualmente efectivo. Do mesmo modo Staples & Macko (31) citam uma série de trabalhos, também com *P. graminis tritici*, cujos autores demonstraram que os constituintes voláteis da folha estimulam a formação de estruturas de infecção e sugeriram que certos compostos libertados das células guardas criam o ambiente químico necessário à formação de apressórios.

Qualquer que seja a natureza do(s) estímulo(s) responsável (eis) pela diferenciação dos apressórios na associação cafeeiro-ferrugem alaranjada, tudo indica que o tratamento pelo calor actuou no sentido de ampliar esse(s) estímulo(s) na superfície das folhas.

Após a formação dos apressórios (primeira estrutura de infecção) o fungo penetra e, segundo Rijo & Rodrigues (21), na associação *C. arabica-II. vastatrix*, só a partir do 3.º dia após a inoculação se começam a observar diferenças no processo de infecção do fungo, em variedades susceptíveis e resistentes. Porém, quando se usou como inóculo quer a cultura virulenta quer a avirulenta, nas folhas previamente tratadas pelo calor verificou-se que no 3.º tal como no 6.º dia após a inoculação o comprimento micelial foi significativamente superior ao observado nas respectivas testemunhas. De uma maneira geral o mesmo se verificou em relação ao número de haustórios/infecção.

Quando se usou como inóculo a cultura virulenta (interação compatível), do maior crescimento micelial resultou que o aparecimento dos primeiros sintomas e o início da esporulação foram significativamente antecipados, por sua vez, a maior percentagem de apressórios formados esteve com certeza na razão directa do maior número de lesões cloróticas e consequentemente na maior produção de uredósporos observada nas folhas tratadas. Também Rodrigues (23, 24, 25) e Martins *et al.* (18) referem o aumento de susceptibilidade em cafeeiros tratados com calor (45°C) respectivamente durante 1.5 h e 1 h. Para Rodrigues (25) estas observações indicam que mesmo as plantas consideradas altamente susceptíveis a ferrugem pos-

suem algum grau de resistência, que é diminuído pelo tratamento com calor.

Quando se inoculou a cultura avirulenta (interação incompatível) nas folhas previamente tratadas com calor verificou-se que algumas infecções abortaram a partir do 3.º dia após a inoculação, tal como sucedeu nas testemunhas. Porém, grande parte das infecções evoluiu originando cloroses onde apenas foi possível observar o início da esporulação (aparecimento dos primeiros soros uredospóricos) devido à queda prematura das folhas, provável consequência do "stress" a que foram submetidas. Por sua vez, Rodrigues (24) faz referência à formação de pústulas em cafeeiros portadores dos genes de resistência SH₁, SH₂, SH₃, e SH₅ na condição homocigota, quando após o tratamento com calor foram inoculadas com raças avirulentas. Tudo indica assim que o calor pode alterar a expressão de resistência dos genes no cafeeiro.

Os testes citológicos realizados nas testemunhas no caso da interação incompatível permitiram detectar a formação de calose e de lenhina que se admitiu desempenhem um papel importante na restrição do crescimento do fungo, contribuindo assim para a resistência observada. Nas folhas tratadas, a grande maioria das infecções apresentou micélio ramificado, bem distribuído no mesófilo e com diversos haustórios. Aqui, a lenhificação das células do hospedeiro não teve expressão nítida, observando-se apenas calose em redor de alguns haustórios (à semelhança do que se observa em interações compatíveis cafeeiro-ferrugem).

Também Elmhirst & Heath (9), nalgumas interações com ferrugens, como efeito de tratamento com calor (50°C, 30 ou 60 s) antes da inoculação referem, por um lado, o aumento no crescimento das hifas de infecção e na formação de células-mãe de haustórios e de haustórios e, por outro, uma ausência de modificações nas paredes celulares e conteúdos citoplasmáticos no hospedeiro. Por sua vez, Stermer & Hammerschmidt (32), em variedades do pepino resistentes ao *Cladosporium cucumerinum* Ell. & Arth. (inoculadas imediatamente após o tratamento com calor-50°C, 40 s), observaram maior crescimento das hifas e menor deposição de compostos afins da lenhina nas paredes celulares do hospedeiro, em comparação com as testemunhas. Concluíram assim, que o referido tratamento atrasou as respostas dinâmicas das plantas, incluindo as actividades essenciais para a resistência à doença. Ainda na interação cafeeiro-ferrugem alaranjada, Rodrigues (23) refere que estudos efectuados ao nível enzimático com extractos de folhas de cafeeiro previamente tratadas com calor (45°C, 1.5 h) indicaram uma perda isoenzimas da peroxidase, enzima que Maxemiuc & Dietrich (19) e Guedes (12) admitem estar envolvida na resistência do cafeeiro à ferrugem.

A ação específica do tratamento com calor na resistência as doenças é desconhecida (33), embora trabalhos recentes tenham demonstrado que o tratamento pelo calor aumenta a síntese de algumas "heat shock proteins" ao mesmo tempo que causa uma inibição temporária da síntese proteica normal (6, 20). Parece assim ser possível admitir que tenham sido alterações metabólicas induzidas nas folhas pelo tratamento com calor antes da inoculação as responsáveis pelo maior desenvolvimento do fungo e pela diminuição da capacidade de defesa ao agente patogénico observados nas folhas tratadas, quer na interação compatível quer na incompatível.

LITERATURA CITADA

1. ALLEN, P.J. 1957. Properties of a volatile fraction from uredospores of *Puccinia graminis* var. *tritici* affecting their germination and development. I. Biological activity. *Plant Physiology* 32:384-389
2. BROWDER, L.E. 1985. Parasite: host: environment specificity in the cereal rusts. *Annual Review of Phytopathology* 23:201-222.
3. CHAMBERLAIN, D.W.; GERDEMANN, J.W. 1966. Heat-induced susceptibility of soybeans to *Phytophthora megasperma* var. *sojae*, *Phytophthora cactorum* and *Helmintosporium sativum*. *Phytopathology* 56:70-73
4. CHAMBERLAIN, D.W. 1972. Heat-induced susceptibility to non-pathogens and cross-protection against *Phytophthora megasperma* var. *sojae* in soybean. *Phytopathology* 62:645-646
5. COLHOUN, J. 1973. Effects of environmental factors on plant diseases. *Annual Review of Phytopathology* 11:343-364.
6. COOPER, P.; HO, T.D. 1983. Heat shock proteins in maize. *Plant Physiology* 71:215-222
7. D'OLIVEIRA, B. 1954. As ferrugens do cafeeiro. *Revista do Café Português* 1(4):5-13; 2(5):5-12; 2(6):5-15; 2(7):9-17; 2(8):5-22; 4(16):5-15.
8. D'OLIVEIRA, B.; RODRIGUES JUNIOR, C.J. 1961. O problema das ferrugens do cafeeiro. *Revista do Café Português* 8(29):5-50.
9. ELMHIRSI, J.F.; HEATH, M.C. 1989. Interactions of the bean rust and cowpea rust fungi with species of the *Phaseolus-Vigna* plant complex. II. Histological responses to infection in heat-treated and untreated leaves. *Canadian Journal of Botany* 67:58-72.
10. ESCHRICH, W.; CURRIER, H.B. 1964. Identification of callose by its diachrome and flurochrome reactions. *Stain Technology* 39:303-304.
11. ESKES, A.B. 1983. Incomplete resistance to Coffee leaf rust *Hemileia vastatrix*. Thesis Ph.D. Wageningen, The Netherlands. 140 p.
12. GUEDES, M.E.M. 1984. Formação de fitalexinas em interações incompatíveis *Coffea arabica-Hemileia vastatrix*. In *Simpósio sobre Ferrugens do Cafeeiro* (1983, Oeiras) Comunicações p. 205-216.
13. HAZEN, B.E.; BUSHNELL, W.R. 1983. Inhibition of the hypersensitive reaction in barley to powdery mildew by heat shock and cytochalasin B. *Physiological Plant Pathology* 23: 421-438
14. IKEGAMI, H. 1968. Heat-induced susceptibility of beans to rust. *Phytopathology* 58:773-775.
15. JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. New York, McGraw-Hill. 523 p.
16. LITTLEFIELD, L.J.; HEATH, M.C. 1979. *Ultrastructure of rust fungi*. New York, Academic Press. 277 p.
17. MARTINS, E.M.F.; TIBURZY, R.; MORAES, W.B.C. 1985. Histological studies of compatible and incompatible interactions of coffee leaves and *Hemileia vastatrix*. *Fitopatologia Brasileira* 10:627-636.
18. MARTINS, E.M.F.; DE MARIA, A.C.; GRUNEWALDT-STOCKER, G.; MORAES, W.B.C. 1986. Changes in the resistance of detached coffee leaves by yeast extract filtrate and heat treatment. *Fitopatologia Brasileira* 11:889-909.
19. MAXEMIUC, V.; DIETRICH, S.M.C. 1985. Changes in phenols and oxidative enzymes in resistant and susceptible *Coffea arabica* inoculated with *Hemileia vastatrix* (coffee rust). *Revista Brasileira de Botânica* 8:185-190
20. NAGAO, R.T. 1989. The heat shock response in plants: Short-term heat treatment regimes and thermotolerance. In *Environmental stress in plants: Biochemical and physiological mechanisms*. J.H. Cherry (Ed.) Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag. Nato ASI Series. v. G19.
21. RIJO, L.; RODRIGUES JUNIOR, C.J. 1978. Processo de infecção de *Hemileia vastatrix* Berk & Br. em cultivares susceptíveis e resistentes de *Coffea arabica* L. *Garcia de Orta (Série Estudos Agronômicos)* 5:23-24.
22. RIJO, L.; VASCONCELOS, M.I. 1984. Formação de calose e de lenhina em combinações incompatíveis *Coffea* sp. - *H. vastatrix*. In *Simpósio sobre Ferrugens do Cafeeiro* (1983, Oeiras) Comunicações. p. 267-281
23. RODRIGUES JUNIOR, C.J. 1975. The coffee rusts: *Hemileia vastatrix* B. & Br. and *H. coffeicola* Maubl. & Rog. In *Colloque de Association Scientifique Internationale du Café* (7). Hambourg. p. 401-408
24. RODRIGUES JUNIOR, C.J. 1984a. Raças fisiológicas de *H. vastatrix*. In *Simpósio sobre Ferrugens do Cafeeiro* (1983, Oeiras) Comunicações. p. 67-79.
25. RODRIGUES JUNIOR, C.J. 1984b. Coffee rust races and resistance. In *Coffee rust in the Americas*. R.H. Fulton (Ed.) Symposium Book no. 2. p. 41-58.
26. ROELFS, A.P. 1988. Genetic control of phenotypes in wheat stem rust. *Annual Review of Phytopathology* 26:351-367

27. SHERWOOD, R. T.; VANCE, C. P. 1976. Histochemistry of papillae formed in reed canary grass leaves in response to noninfecting pathogenic fungi. *Phytopathology* 66:503-510.
28. SILVA, M. C.; RIJO, L.; RODRIGUES JUNIOR, C. J. 1985. Differences in aggressiveness of two isolates of race III of *Hemileia vastatrix* on the cultivar Caturra of *Coffea arabica*. In *Colloque de Association Scientifique International du Café* (11., Lomé). p. 635-645.
29. SOTOMAYOR, I. A.; PURDY, L. H.; TRESE, A. T. 1983. Infection of sugarcane leaves by *Puccinia melanocephala*. *Phytopathology* 73: 695-699.
30. STAPLES, R. C.; GRAMBOW, H.; HOCH, H. C.; WYNN, W. K. 1983. Contact with membrane grooves induces wheat stem rust uredospore germings to differentiate appressoria but not vesicles. *Phytopathology* 73:1436-1439.
31. STAPLES, R.; MACKO, V. 1987. Germination of uredospores and differentiation of infection structures. In *The cereal rusts*. W. R. Bushnell, A. P. Roelfs (Eds.) Orlando, Fla., Academic Press. p. 255-289.
32. STERMER, B. A.; HAMMERSCHMIDT, R. 1982. Effects of heat-shock on varietal and non-host resistance in cucumbers. *Phytopathology* 72:969.
33. STERMER, B. A. & HAMMERSCHMIDT, R. 1984. Heat shock induces of resistance to *Cladosporium cucumerinum* and enhances peroxidase activity in cucumbers. *Physiological Plant Pathology* 25:239-249.
34. TIBURZY, R.; MARTINS, E. M. F.; MORAES, W. B. C. 1983. Visualization of *Hemileia vastatrix* structures in coffee leaves by fluorescence microscopy. *Fitopatologia Brasileira* 8:461-466.
35. WYNN, W. K. 1976. Appressorium formation over stomates by the bean rust fungus: Response to a surface contact stimulus. *Phytopathology* 66:136-146.
36. YARWOOD, C. E. 1956. Heat-induced susceptibility of beans to some viruses and fungi. *Phytopathology* 46:523-525.
37. YARWOOD, C. E.; HOOKER, A. L. 1966. Heat predisposition to corn rust. *Phytopathology* 56:510-511.

RESEÑA DE LIBROS

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. 1991. *Studia oecologica*. v. 8. 249 p.

Studia Oecologica es una publicación periódica sobre estudios de ecología de la Universidad de Salamanca, España.

Los trabajos que se recogen en este número de *Studia Oecologica* forman parte de las comunicaciones presentadas en las III Jornadas de Ecología Terrestre, auspiciadas por la Asociación Española de Ecología Terrestre y que se llevarán a cabo en León, del 16 al 20 de setiembre de 1991.

De los 22 trabajos publicados, 19 corresponden a ecología vegetal. De éstos, 10 están referidos a sistemas

forestales, tanto en los aspectos del suelo como de la diversidad, dinámica poblacional, floración, productividad y mortalidad de especies vegetales. Los nueve restantes se relacionan con el desarrollo y la dinámica estructural de distintas formas de vida.

Solamente tres trabajos están asociados a la ecología animal y referidos a la diversidad de la colembófauna en suelos de encinar, la mortalidad de aves esteparias y la efectividad de insectos polinizadores.

NEVER BONINO
INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA
AGROPECUARIA
ARGENTINA

Efecto de la Hipoxia sobre el Crecimiento y Adquisición de Nutrientes en *Lolium multiflorum*¹

I.D. Kleiman*; D.H. Cogliatti**; G.E. Santa María***

ABSTRACT

Plants of *Lolium multiflorum* were grown in sand watered with a complete nutrient solution, under greenhouse conditions. Hypoxia was obtained flooding pots with a 3.5 cm level of nutrient solution. Hypoxia did not affect shoot and total biomass production, or net assimilation rate. However, oxygen deficiency decreased tillering, leaf area and root and growth. Shoot/root ratio increased. After 23 treatments, flooded plants showed shorter roots and a higher ratio of nodal to seminal roots. Furthermore, hypoxic plants had a higher percentage of gas spaces in nodal roots than the control plants. Specific absorption rate (SAR) of K and P was similar in both treatments for the whole experiment. However, the mean specific translocation rate (STR) for both nutrients was higher in flooded plants than in the control. On the other hand, both mean nitrogen SAR and STR were slightly lower in flooded plants. Finally, during the last part of the experiment (16 - 23 days), hypoxic plants showed higher P, N and K net absorption and translocation rates than the control plants. Transpiration, at the end of experiment, was higher in plants under hypoxia than in the controls. The relationship between *L. multiflorum* resistance to flooding, and its ability to absorb for nutrients and water through the presence of aerenchyma in the roots, is discussed.

INTRODUCCION

La inundación provoca condiciones de hipoxia, o anoxia, en los suelos, debido a restricción en el intercambio de oxígeno entre ellos y la atmósfera (4, 10, 18). Ambas condiciones afectan el crecimiento y el funcionamiento de las raíces en numerosas especies de plantas. Aparentemente, la disminución de la actividad metabólica en las células de la raíz, porque se tornan deficientes en oxígeno, sería una de las causas iniciales del daño, así como la posible acumulación de toxinas como resultado de la respiración anaeróbica (1, 10, 18).

COMPENDIO

Plantas de *Lolium multiflorum* fueron cultivadas en arena regada con solución nutritiva completa, en invernáculo. La hipoxia se obtuvo al inundar las macetas con una lámina de solución nutritiva de 3.5 centímetros. Esta no afectó la producción de biomasa de la parte aérea y total ni la tasa de asimilación neta de la planta. Sin embargo, la deficiencia de oxígeno provocó la disminución del macollaje y crecimiento del área foliar y raíces. Consecuentemente, la relación entre vástago y raíz aumentó en esas condiciones. Después de 23 d de tratamiento, las plantas inundadas mostraron raíces más cortas y mayor relación entre número de raíces nodales y de raíces seminales, así como mayor porcentaje de espacios aéreos en las raíces nodales respecto de las plantas de control. En el período experimental la SAR de K y P fue similar en ambos tratamientos. Sin embargo, la STR media, para ambos nutrientes, fue mayor en las plantas inundadas respecto de los controles. Por otro lado, la SAR media como la STR media de N fueron levemente menores en las plantas inundadas. Finalmente, en la última parte del experimento, las plantas hipóxicas mostraron mayores tasas de absorción y translocación neta de P, N y K que las de control. Al final del experimento la transpiración fue mayor en las plantas sometidas a hipoxia que en los controles. Se discute la relación entre resistencia de *L. multiflorum* a las inundaciones y su habilidad para absorber nutrientes y agua en esas condiciones, con presencia de espacios aéreos en sus raíces.

Como consecuencia, durante la hipoxia, las raíces muestran menos biomasa y longitud, disminución de la conductividad hidráulica y alteraciones en la absorción y transporte de iones (19, 20, 29). Además, el crecimiento del vástago también se ve afectado por la hipoxia, y en él aparecen diversos síntomas de estrés, tales como, marchitez, deficiencia de nutrientes, senescencia de hojas basales y cambios en el balance hormonal, los que con el tiempo pueden conducir a la muerte de la planta entera (22, 30, 32).

Sin embargo existen plantas que sobreviven a la falta de aireación de los suelos, ante la presencia de mecanismos de resistencia, cuya naturaleza depende de la especie considerada (3). Dichos mecanismos incluyen respuestas fisiológicas y anatómicas, de las cuales la más estudiada es el desarrollo de raíces con aerénquima. En ciertas especies como el maíz, el desarrollo de aerénquima es una respuesta estimulada por las condiciones de hipoxia (6), en tanto que en el arroz la aparición de este tejido ocurre tanto en condiciones de suministro adecuado de oxígeno, como

1 Recibido para publicación el 15 de julio de 1991.

* Becaria de Estudio. Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, Arg.

** Facultad de Agronomía, UNCPBA, Azul, Prov. de Buenos Aires, Arg.

*** Centro de Ecofisiología Vegetal (CEVEG); Serrano 665, 1414 Capital Federal, UNLU, Cruce Ruta 5 y 7, Luján, Prov. de Buenos Aires, Arg.

cuando este se encuentra restringido (25). El aerénquima también puede desarrollarse en algunas especies en condiciones de aireación como respuesta a la deficiencia de nutrientes (12, 17).

Por otro lado, con excepción del maíz, es escasa la información respecto de la adquisición y translocación de nutrientes en especies que desarrollan raíces con aerénquima, en condiciones de hipoxia (11).

L. multiflorum es una gramínea forrajera ampliamente distribuida en la depresión del Río Salado (Provincia de Buenos Aires, Arg), que puede vivir en zonas que se inundan periódicamente (26).

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la hipoxia sobre el crecimiento y adquisición de nutrientes en esta especie y conocer los posibles mecanismos que le permiten resistir la inundación de los suelos.

MATERIALES Y METODOS

Cultivo de plantas y diseño experimental

Plántulas de *L. multiflorum*, diez días después de germinadas en cámara húmeda y oscura, se transplantaron a macetas de 800 ml de capacidad con arena húmeda lavada con agua desmineralizada. En cada maceta se colocaron cinco de dichas plántulas.

El experimento se realizó de setiembre a noviembre en condiciones de invernáculo, siendo la temperatura media máxima de $29.3^{\circ}\text{C} \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ y la temperatura media mínima de $14.8^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$, ambas calculadas sobre la base del registro continuo realizado por un termógrafo.

Las macetas fueron regadas diariamente con solución nutritiva completa (solución Hoagland) (21), con un volumen suficiente para renovar totalmente el contenido de las mismas; este procedimiento permitió asegurar la constancia del pH, el cual se ajustó a un valor de 6.05; y del suministro de nutrientes. Esta constancia en las condiciones de cultivo fue corroborada midiendo diariamente el pH y la concentración de fósforo por medio del método de Murphy y Riley (27) en las macetas, a lo largo del experimento.

Veinticuatro días después del trasplante, la mitad de las macetas fueron sometidas a inundación, con una lámina de solución nutritiva de 3.5 cm sobre el nivel de arena, que impidió el drenaje, y el resto quedó como control.

La solución de inundación se renovó diariamente y la concentración de oxígeno en ella se midió con un monitor de oxígeno YSI Modelo 53. En el tratamiento de inundación, la concentración de oxígeno fue de 0.51 0.072 ppm, mientras que en los controles la misma fue de 6.1 0.6 partes por millón.

Cinco macetas de cada tratamiento se cosecharon a los 0 d, 2 d, 4 d, 8 d, 16 d y 23 d de iniciada la inundación.

Medición de parámetros de crecimiento y nutrientes

En todas las cosechas se determinó el peso fresco de la parte aérea y la raíz, número de macollos, de hojas expandidas y área foliar. Esta última se midió con un medidor de área foliar Li-Cor Modelo 3050A. El número de hojas expandidas se cuantificó mediante el índice de desarrollo foliar, el cual es un número decimal en el cual la parte entera es el número de hojas totalmente expandidas, y la parte decimal indica el tamaño relativo de la última hoja en expansión con respecto a la anterior (7). En las dos últimas cosechas se midió, además, el número de raíces seminales y nodales, y la longitud de la raíz más larga de cada tipo.

El material vegetal cosechado fue secado a 80°C hasta obtener un peso seco constante; una vez pesado, fue digerido con ácido sulfúrico y agua oxigenada (28). En las muestras digeridas se determinó la concentración de P por el método de Murphy y Riley; la de N, por el método de Kjeldahl y la de K, por espectrofotometría de emisión.

A partir de las mediciones básicas de área foliar, peso seco y contenido de nutrientes en los distintos órganos, se calcularon los parámetros de crecimiento y absorción de nutrientes.

La tasa de crecimiento relativo (RGR) y la tasa de asimilación neta (NAR) se estimaron con las siguientes ecuaciones:

$$\ln W_t = \ln W_i + \text{RGR} \cdot t$$

$$\text{NAR} = \frac{W_f - W_i}{A_f - A_i} \cdot \frac{\ln A_f - \ln A_i}{t_f - t_i}$$

donde:

W_t es el peso seco total al tiempo t ;

W_i es el peso seco total inicial;

- t es el tiempo;
- W_r es el peso seco total al finalizar el período experimental;
- A_f es el área foliar al finalizar el período experimental;
- A_i es el área foliar inicial;
- $(t_f - t_i)$ es el período experimental.

Dado que el contenido de los distintos nutrientes aumentó en forma exponencial, la tasa específica de absorción (SAR) media y la tasa de translocación neta (STR) media de todo el intervalo fueron calculadas como:

$$SAR = RAR_t \cdot Q_{it}/W_r \cdot e^{RAR_t t}$$

$$STR = RAR_{pa} \cdot Q_{ipa}/W_r \cdot e^{RAR_{pa} t}$$

donde RAR, tanto para la parte aérea (pa) como total (t), es la pendiente de regresión lineal: $\ln Q = \ln Q_i + RAR \cdot t$; Q_{it} es el contenido inicial total; Q_{ipa} es el contenido inicial en la parte aérea; t es el tiempo y W_r es el peso seco medio de la raíz. Entre los 16 d y 23 d de tratamiento la SAR y la STR fueron calculadas para los tres nutrientes como una medida independiente, por cosechas sucesivas, según las siguientes ecuaciones:

$$SAR = (Q_{tf} - Q_{ti}) \cdot (t_f - t_i)^{-1} \cdot W_r^{-1}$$

$$STR = (Q_{par} - Q_{pai}) \cdot (t_f - t_i)^{-1} \cdot W_r^{-1}$$

donde:

- Q_{tf} es el contenido total final;
- Q_{par} es el contenido final de la parte aérea;
- Q_{ti} es el contenido total inicial;
- Q_{pai} es el contenido inicial de la parte aérea;
- W_r es el peso seco medio de raíz;
- $(t_f - t_i)$ es el período experimental.

Cortes histológicos

Se realizaron cortes, a mano alzada, de las raíces nodales provenientes de plantas extraídas en la última cosecha. Los cortes se hicieron a diferentes distancias del ápice y luego teñidos con Sudán IV. Una vez

fijados, se observaron y se fotografiaron por medio de un microscopio óptico. A partir de las fotos se calcularon, para ambos tratamientos, los porcentajes de espacios aéreos en la corteza media de la raíz, siguiendo el método de Drew *et al.* (11).

Transpiración

La transpiración se estimó a los veintitrés días de inundación, durante un período determinado, como la disminución de peso de las macetas con plantas, menos la disminución de peso correspondiente a macetas sin plantas. Esta diferencia de peso se dividió por el área foliar.

RESULTADOS Y DISCUSION

Crecimiento de las plantas

Los resultados obtenidos mostraron que, en esta especie, la hipoxia no afectó la producción de biomasa seca total ni la tasa de asimilación neta (NAR) (Cuadro 1, Fig. 1). Esto sugiere que en *L. multiflorum*, la deficiencia de oxígeno en el medio de cultivo no afectó la eficiencia fotosintética de las plantas. Sin embargo, la partición de materia seca fue diferente en las plantas inundadas respecto de las control. La relación entre el vástago y la raíz de las plantas inundadas fue mayor a partir de los ocho días de tratamiento (Fig. 2).

Cuadro 1. Efecto de la hipoxia sobre la tasa de asimilación neta (NAR) y tasa de crecimiento relativo (RGR) de las plantas, entre 0 - 23 días de tratamiento.

	Hipoxia	Control
NAR mg cm ⁻² .d ⁻¹	0.552	0.613
RGR d ⁻¹	0.103	0.117

Este aumento fue consecuencia del menor crecimiento del sistema radical ya que, en condiciones de hipoxia, no se obtuvieron diferencias significativas en el crecimiento de la parte aérea de las plantas (Fig. 1). Las raíces de las plantas inundadas mostraron valores de peso seco, peso fresco y longitud de los ejes principales significativamente menores que las plantas de control (Cuadro 2, Fig. 1). La deficiencia de oxígeno podría provocar una disminución en la tasa de respiración, lo que resultaría en una menor disponibilidad de energía para el crecimiento (1, 18); a

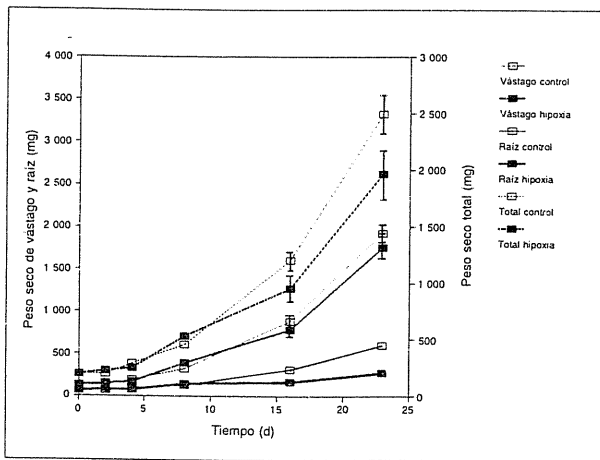


Fig. 1. Efecto de la hipoxia sobre la producción de materia seca (Peso seco de vástago, raíz y total): Promedio de cinco repeticiones con sus errores estándar.

esto podría agregarse la mortandad de raíces en las plantas inundadas, fenómeno también constatado por otros autores (29). Luego de 23 d de inundación, se advirtieron diferencias marcadas entre tratamientos, en el número de raíces nodales y seminales. Las plantas deficientes en oxígeno presentaron una relación de número de raíces nodales número de raíces seminales mayor que las plantas de control (Cuadro 2). Esto se debió tanto a un aumento en el número de raíces nodales como a la muerte de raíces seminales. Es importante

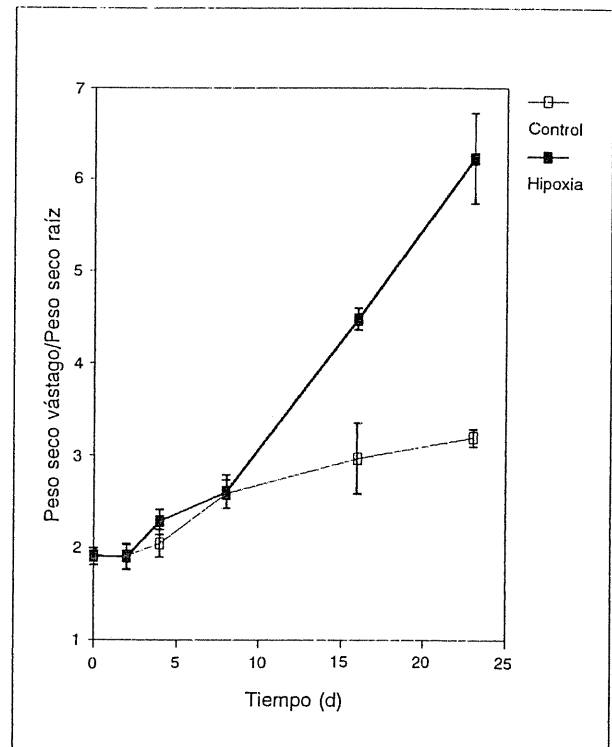


Fig. 2. Efecto de la hipoxia sobre la relación entre peso seco de vástago y peso seco de raíz: Promedios de cinco repeticiones con sus errores estándar.

Cuadro 2. Efecto de la hipoxia sobre el crecimiento del sistema radical. Promedios de cinco repeticiones con sus errores estándar.

	16 días		23 días	
	Hipoxia	Control	Hipoxia	Control
Peso fresco (mg)	2 242.8* ±287.9	4 312.6 ±306.1	4 169.6* ±336.1	7 257.8 ±596.7
Longitud raíces seminales (cm)			9.1* ±0.9	14.7 ±1.1
Longitud raíces nodales (cm)			8.6* ±0.6	11.5 ±0.9
Relación nodales seminales (núm.)	4.9* ±0.6	2.3 ±0.2	14.1 ±2.7	3.7 ±0.5

* Diferencias significativas entre tratamientos, P=0.05.

destacar que, en las últimas cosechas, las raíces nodales de las plantas hipóxicas mostraron ramificaciones laterales y mayor diámetro que las raíces nodales de las plantas de control (datos no mostrados).

Se observaron modificaciones en la anatomía de las raíces nodales debido a la inundación. Estas raíces presentaron numerosos espacios aéreos que ocuparon el $38\% \pm 3.1\%$ de la corteza media, a diferencia de las raíces nodales de las plantas de control, que si bien presentaron espacios aéreos, estos fueron del $27\% \pm 1.5\%$ (Figs. 3 y 4). En ambos tratamientos, el aerénquima se evidenció a partir de 2 cm a 3 cm del ápice radical. Las diferencias en el desarrollo del sistema sugieren que sumado al efecto directo de la hipoxia sobre el metabolismo de las raíces, podrían ocurrir cambios en el balance hormonal (32). Cabe preguntarse si son la causa de un aumento en los niveles endógenos de etileno. En maíz se observó que la rápida emergencia de raíces adventicias con formación de aerénquima pueden ser estimuladas por ese hecho.

En condiciones de inundación dicho aumento se debería a que el etileno queda atrapado alrededor de las raíces, en las capas de agua sin agitación y a una mayor síntesis de este gas provocada por la hipoxia (2, 9). Sin embargo, en arroz el aerénquima se formaría, aparentemente, sin la intervención del etileno y su desarrollo ocurre tanto en medios aeróbicos o anaeróbicos como parte de la diferenciación normal de las raíces (24). *L. multiflorum* representaría una situación intermedia en la que el etileno probablemente sintetizado y acumulado durante la inundación, aumentaría la emergencia de raíces nodales, el número de espacios aéreos existentes en la corteza de las mismas y provocaría la disminución de la elongación del sistema radical, como ha sido propuesto por distintos autores (9, 32).

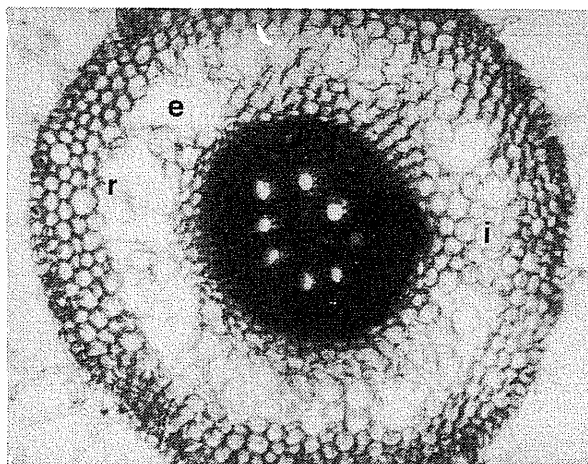


Fig. 3. Corte transversal de raíces nodales de plantas sometidas a 23 d de inundación; e: espacios aéreos, r: residuos de pared de células colapsadas, i: células intactas. Aumento microfotografía = 100x.

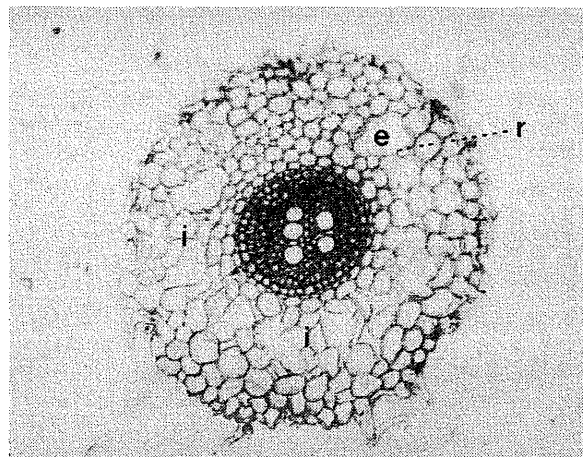


Fig. 4. Corte transversal de raíces nodales de plantas control; e: espacios aéreos, r: residuos de pared de células colapsadas i: células intactas. Aumento microfotografía = 100x.

En la mayoría de las especies no palustres, estudiadas en condiciones de inundación, se observó una disminución del crecimiento de la parte aérea de las plantas (22, 29). Sin embargo, en *L. multiflorum* la acumulación de biomasa en la parte aérea no fue afectada (Fig. 1). Pues, en estas condiciones, se produjo una distribución diferente de asimilados, lo que favoreció el desarrollo de las vainas en relación con las láminas (Cuadro 3), así como una disminución en el número de macollos (Fig. 5).

Paralelamente, estas plantas produjeron menor área foliar respecto de los controles (Fig. 6). Si bien las hojas basales de las plantas sometidas a hipoxia mostraron síntomas de senescencia, el número de hojas expandidas no mostró diferencias significativas con las plantas control (Fig. 7).

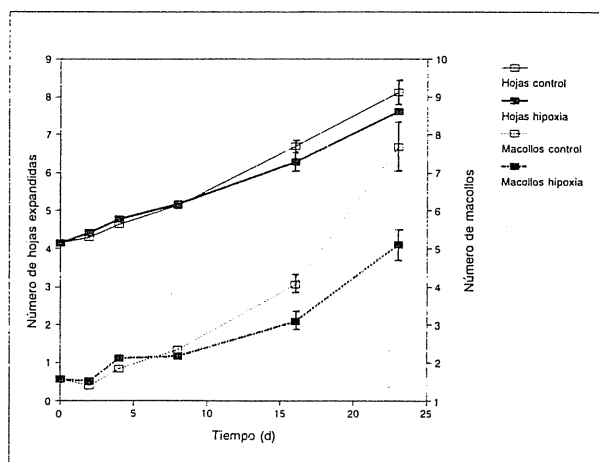


Fig. 5. Efecto de la hipoxia sobre el número de macollos y número de hojas expandidas: Promedios de cinco repeticiones con sus errores estándar.

Cuadro 3. Efecto de la hipoxia sobre la relación peso seco vainas/peso seco láminas; relación peso fresco/peso seco de la parte aérea; y tasa de transpiración de las plantas. Promedios de cinco repeticiones con sus errores estándar.

	16 días		23 días	
	Hipoxia	Control	Hipoxia	Control
P.S. vainas/	0.853*	0.596	0.869*	0.752
P.S. láminas	± 0.06	± 0.03	± 0.05	± 0.01
Peso fresco/	6.834	7.145	6.385	6.300
Peso seco	± 0.09	± 0.04	± 0.06	± 0.03
Transpiración ml.cm ⁻² h ⁻¹			0.025* ± 0.006	0.017 ± 0.002

* Diferencias significativas entre tratamientos, P=0.05.

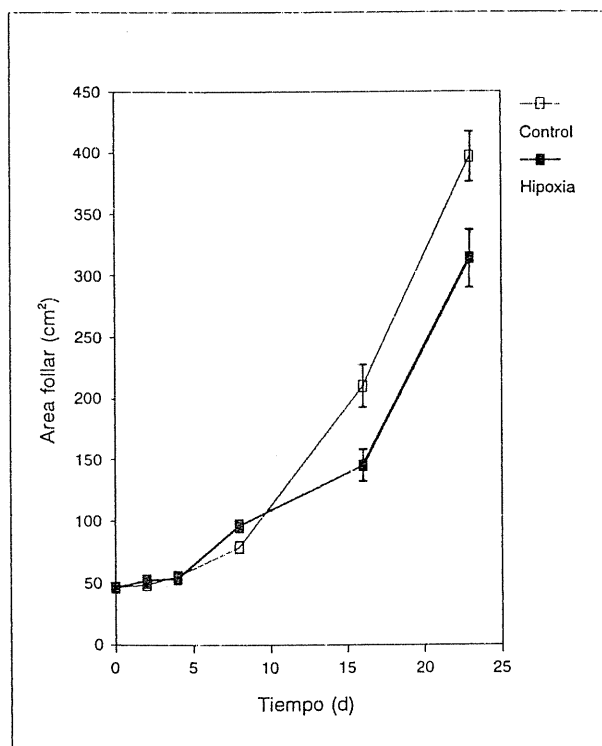


Fig. 6. Efecto de la hipoxia sobre la producción de área foliar: Promedios de cinco repeticiones con sus errores estándar.

Transpiración

El estado de hidratación de la parte aérea no se vio modificado por la hipoxia, ya que la relación entre peso fresco y peso seco fue similar en ambos tratamientos (Cuadro 3). En muchas especies estudiadas en con-

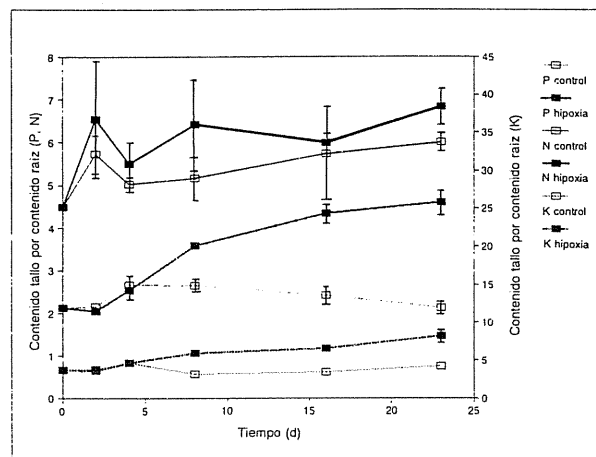


Fig. 7. Efecto de la hipoxia sobre la relación entre contenido del vástago y contenido de la raíz para fósforo, nitrógeno y potasio: Promedios de cinco repeticiones con sus errores estándar.

diciones de inundación, el potencial de agua en las hojas permanece igual o aumenta de acuerdo con los controles debido al cierre de los estomas, probablemente ocasionado por el aumento de los niveles de ABA en las hojas (23). Por otro lado, luego de 23 d de tratamiento, la tasa de transpiración en las plantas hipóxicas fue mayor que en las plantas control (Cuadro 3).

Estos datos difieren de los encontrados en otros trabajos donde se vio que la inundación provocaba la disminución de la conductividad hidráulica de las raíces y la conductividad estomática, con la consecuente disminución de la tasa de transpiración (5).

Adquisición de nutrimentos

Con frecuencia las plantas sometidas a inundación muestran una menor concentración de nutrimentos (11, 30). En *L. multiflorum*, las concentraciones de P, N y K, en las plantas hipóxicas, no mostraron, a lo largo del experimento, un comportamiento definido; aunque en algunos momentos fueron significativamente menores, tanto en vástago como en raíz, respecto de los controles (Cuadro 4).

Las tasas de absorción neta media (SAR) de P y K no fueron afectadas por la deficiencia de O₂ en la solución de cultivo, sin embargo existió una ligera disminución en la absorción de N (Cuadro 5). La causa de este hecho podría ser que, durante la hipoxia, las plantas desarrollaron numerosas raíces nodales con abundante aerénquima cuya tasa de absorción de nutrimentos sería suficiente para compensar la incapacidad de las raíces seminales afectadas. Es conocido que el aerénquima permite una tasa de respiración normal en los tejidos de la raíz, facilitando la difusión

de O₂ desde la parte aérea (31). En maíz, las raíces con aerénquima presentaron altos valores en el contenido de ATP y en la relación ATP/ADP. El estado energético de estas raíces en un medio anaeróbico fue similar al de las raíces aeróbicas, debido al transporte interno de oxígeno a través de distancias de al menos 210 mm (14).

Las tasas de translocación neta media (STR) de P y K fueron un poco más altas para las plantas inundadas, no así la de N que fue ligeramente más baja respecto de los controles (Cuadro 5). En maíz se determinó que la disminución en el número de células corticales de la raíz no afecta el movimiento radial de iones hacia el xilema y que este ocurriría por las células intactas que unen la epidermis con la endodermis (15). Probablemente que una situación similar haya ocurrido en las raíces de *L. multiflorum*.

Es importante destacar que entre los 16 d y 23 d de tratamiento, las plantas hipóxicas mostraron,

Cuadro 4. Efecto de la hipoxia sobre las concentraciones de fósforo, nitrógeno y potasio, en vástago y raíz. Promedios de cinco repeticiones con sus errores estándar.

		8 días		16 días		23 días	
		Hipoxia	Control	Hipoxia	Control	Hipoxia	Control
Concentración en vástago ($\mu\text{moles.g}^{-1}$)	P	225.57 ± 7.89	236.25 ± 7.44	217.52* ± 10.00	241.96 ± 8.25	275.99 ± 15.19	283.52 ± 10.46
	N	3 182.95* ± 114.57	3 885.25 ± 104.31	2 653.34* ± 123.65	3 741.13 ± 86.49	2 488.26* ± 83.26	3 097.38 ± 125.88
	K	3 439.94 ± 85.51	3 465.96 ± 22.19	3 286.56* ± 73.73	3 657.93 ± 39.78	3 113.48* ± 42.75	3 392.74 ± 52.73
Concentración en raíz ($\mu\text{moles.g}^{-1}$)	P	167.47* ± 10.09	231.22 ± 11.32	226.29* ± 7.78	294.34 ± 21.56	270.14 ± 10.51	293.51 ± 13.96
	N	1 429.03* ± 176.99	1 990.89 ± 148.56	1 983.00 ± 38.04	2 034.19 ± 109.28	2 409.92* ± 68.91	1 657.51 ± 82.92
	K	1 552.52 ± 97.24	2 866.89 ± 193.87	2 241.06* ± 60.84	3 097.67 ± 66.11	2 498.15 ± 28.09	2 632.65 ± 164.36

* Diferencias significativas entre tratamientos, P = 0.05.

por unidad de peso de raíz, una absorción y translocación de P, N y K mayor que las plantas de control (Cuadro 5). Estos resultados podrían deberse al cambio en la relación entre el vástago y la raíz señalada en las últimas cosechas; el aumento relativo de la biomasa aérea podría ejercer un efecto regulatorio sobre la absorción y transporte de iones, mediante un aumento en la demanda ejercida sobre un sistema radical empobrecido (13).

Como el crecimiento del sistema radical fue severamente afectado por la hipoxia, la parte aérea de las

plantas representó, además, el destino más importante para los nutrientes, aumentando el porcentaje de N, P y K absorbido y translocado al vástago (Fig. 7, Cuadro 5).

Se puede concluir que *L. multiflorum* es una especie resistente a las condiciones de hipoxia, en las cuales mantiene la eficiencia fotosintética, la capacidad de adquisición de nutrientes y agua. La resistencia a condiciones de inundación estaría estrechamente relacionada con la emergencia de raíces nodales con abundante aerénquima.

Cuadro 5. Efecto de la hipoxia sobre la tasa de absorción neta (SAR); tasa de translocación neta (STR), y porcentaje de transporte, de fósforo, nitrógeno y potasio.

		Fósforo	Nitrógeno	Potasio
SAR media $\mu\text{moles mg}^{-1}\text{día}^{-1}$	H	0.291	2.979	4.437
	C	0.308	3.686	4.642
SAR media $\mu\text{moles mg}^{-1}\text{día}^{-1}$	H	0.269	2.681	4.315
	C	0.209	3.142	3.665
Porcentaje de transporte	H	92.46	89.99	97.25
	C	67.90	85.24	78.95
SAR 16-23 días $\mu\text{moles mg}^{-1}\text{día}^{-1}$	H	0.132	1.647	1.970
	C	0.076	0.966	1.251
SAR 16-23 días $\mu\text{moles mg}^{-1}\text{día}^{-1}$	H	0.110	1.493	1.897
	C	0.049	0.866	1.064

H = Hipoxia; C = Control.

LITERATURA CITADA

1. ARMSTRONG, W.; GAYNARD, T.J. 1976. The critical oxygen pressure for respiration in intact plants. *Physiologia Plantarum* 37:200-206.
2. ATWELL, B.J.; DREW, M.C.; JACKSON, M.B. 1988. The influence of oxygen deficiency on ethylene synthesis, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid levels and aerenchyma formation in roots of *Zea mays*. *Physiologia Plantarum* 72:15-22.
3. BARCLAY, A.M.; CRAWFORD, R.M.M. 1982. Plant growth and survival under strict anaerobiosis. *Journal of Experimental Botany* 33(134):541-549.
4. BLACKWELL, P.S. 1979. Methods of studying the aeration of soil in lysimeters. In *Agricultural Research Council, Letcombe Laboratory Annual Report* p. 29-31.
5. BRADFORD, K.K.; HSIANG, I.C. 1982. Stomatal behavior and water relation of waterlogged tomato plants. *Plant Physiology* 70:1508-1513.
6. CAMPBELL, R.; DREW, M.C. 1983. Electron microscopy of gas space (aerenchyma) formation in adventitious roots of *Zea mays* L. subjected to oxygen shortage. *Planta* 157:350-357.
7. COOPER, D.H. 1986. Uptake, assimilation and circulation of nitrogen compounds in cereals. Ph.D. Thesis. Oxford, Brasenose College.
8. DAHIA, S.C. 1985. Simultaneous and intermittent measurements of K, Ca and NO₃ ion absorption by intact bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) in aerobic and anaerobic condition. *Plant and Soil* 84:193-199.
9. DREW, M.C.; JACKSON, M.B.; GIFFARD, S. 1979. Ethylene promoted rooting and development of cortical air spaces (aerenchyma) in roots may be adaptive responses to flooding in *Zea mays* L. *Planta* 147:83-88.
10. DREW, M.C.; LYNCH, J.M. 1980. Soil anaerobiosis, microorganisms, and root function. *Annual Review of Phytopathology* 18:37-66.
11. DREW, M.C.; CHAMEL, A.; GARREC, J.P.; FOURCY, A. 1980. Cortical air spaces (aerenchyma) in roots of corn subjected to oxygen stress: Structure and influence on uptake and translocation of ⁸⁶Rubidium ions. *Plant Physiology* 65:506-511.
12. DREW, M.C.; SAKER, I.R. 1982. Induction of aerenchyma formation by nutrient deficiency in well aerated maize roots. In *Agricultural Research Council, Letcombe Laboratory Annual Report* p. 41-42.
13. DREW, M.C.; SAKER, I.R. 1984. Uptake and long distance transport of phosphate, potassium and chloride in relation to internal ion concentrations in barley: Evidence of non-allosteric regulation. *Planta* 160:500-507.
14. DREW, M.C.; SAGLIO, P.H.; PRADEI, A. 1985. Larger adenylate energy charge and ATP/ADP ratios in aerenchymatous roots of *Zea mays* in anaerobic media as a consequence of improved internal oxygen transport. *Planta* 165:51-58.
15. DREW, M.C.; FOURCY, A. 1986. Radial movement of cations across aerenchymatous roots of *Zea mays* measured by Electron Probe X-Ray Microanalysis. *Journal of Experimental Botany* 37(179):823-831.
16. DREW, M.C.; SAKER, I.R. 1986. Ion transport to the xylem in aerenchymatous roots of *Zea mays* L. *Journal of Experimental Botany* 37(174):22-23.
17. DREW, M.C.; HE, C.J.; MORGAN, P.W. 1989. Decreased ethylene biosynthesis, and induction of aerenchyma, by nitrogen- or phosphate- starvation in adventitious roots of *Zea mays* L. *Plant Physiology* 91:266-271.
18. DREW, M.C. 1990. Sensing soil oxygen. *Plant, Cell and Environment* 13:681-693.
19. EVERARD, J.D.; DREW, M.C. 1981. Water and nutrient fluxes across oxygen-deficient roots of maize. In *Agricultural Research Council, Letcombe Laboratory Annual Report* p. 33-34.
20. EVERARD, J.D.; DREW, M.C. 1987. Mechanisms of inhibition of water movement in anaerobically treated roots of *Zea mays* L. *Journal of Experimental Botany* 38(192):1154-1165.
21. HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. 1950. The water culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experimental Station Circular* no. 347.
22. JACKSON, M.B. 1979. Rapid injury to peas by soil waterlogging. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 30:143-152.
23. JACKSON, M.B.; HALL, K.C. 1983. Stomatal closure by endogenous abscisic acid in the absence of a water deficit. In *Agricultural Research Council, Letcombe Laboratory Annual Report* p. 54.
24. JACKSON, M.B.; TREVOR, M.F.; JENKINS, W. 1985. Aerenchyma (gas space) formation in adventitious roots of rice (*Oryza sativa* L.) is not controlled by ethylene or small partial pressures of oxygen. *Journal of Experimental Botany* 36(171): 1566-1572.
25. JOHN, C.D. 1977. The structure of rice roots grown in aerobic and anaerobic environments. *Plant and Soil* 47:269-274.
26. LEON, R. 1975. Las comunidades herbáceas de la región Castelli-Pila. In *Productividad primaria neta de sistemas herbáceos. I Monografía*. Buenos Aires, Comisión de Investigaciones Científicas.
27. MURPHY, J.; RILEY, J.P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Annals of Chemistry Acta* 27:31-36.
28. NOVOZONSKY, I. 1983. A novel digestion technique for multielement plant analysis. *Communication in Soil Science Plant Annals* 14:239-248.
29. TROUGHT, M.C.I.; DREW, M.C. 1980. The development of waterlogging damage in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). I. Shoot and root growth in relation to

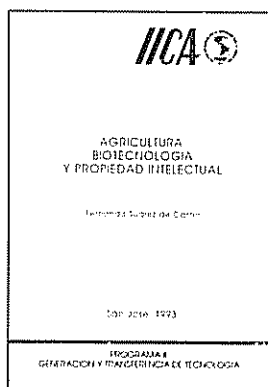
changes in the concentrations of dissolved gases and solutes in the soil solution. *Plant and Soil* 54:77-94.

30. TROUGHTI, M C T ; DREW, M.C. 1980. The development of waterlogging damage in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). II. Accumulation and redistribution of nutrients by the shoot. *Plant and Soil* 56:187-199.
31. WILLIAMS, W. I.; BARBER, D A. 1961. The functional significance of aerenchyma in plants. In *Mechanisms in*

biological competition. Symposium of Society of Experimental Biology 15:132-144.

32. WRIGHT, S.T.C. 1978. Phytohormones and stress phenomena. In *Phytohormones and related compounds: A comprehensive treatise*. D.S. Lethman, P.B. Goodwin, T.J.V. Higgins (Eds). Amsterdam, Elsevier v.2, p. 497-505.

LIBRO RECOMENDADO



Agricultura, Biotecnología y Propiedad Intelectual. Fernando Suárez de Castro. Programa II. 136 p. Serie Publicaciones Misceláneas (ISSN 0534-5391) AI/SC-93-05.

Importante contribución a la protección de las innovaciones tecnológicas. Se discute ampliamente el desarrollo, su relevancia actual y el potencial de las nuevas agrobiotecnologías. Además enfoca los aspectos técnicos y legales de la evolución de estas tecnologías.

US\$6.00

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

Host-Pathogen Interaction in Dual Cultures of *Helianthus annuus* L.-*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary.¹

S.M. Piubello,* O.H. Caso,* M.A. del Pero Martínez**

ABSTRACT

A new system for *in vitro* dual culture of the peritrophic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* and a callus derived from cotyledons of *Helianthus annuus* is described. The dual culture was accomplished by surrounding a piece of mycelium with a plastic ring. As in the case of an intact plant stem, the lack of a mechanical barrier did not restrict fungal invasion, causing the complete deterioration of the callus after 72 hours. However, an increase of phenolic compounds was detected both in the inoculated zone and the rest of the callus. This biochemical reaction to the infection is similar to that described for the whole plant. Isochlorogenic acid showed the highest increase. The increment in phenolic concentrations was lower than in the whole plant, never attaining a level that could inhibit fungal invasion.

RESUMEN

En este trabajo se describe un nuevo sistema para el cultivo dual *in vitro* de un hongo peritrofo *Sclerotinia sclerotiorum* y un callo derivado de cotiledón de *Helianthus annuus*. Dicho cultivo dual se logró circunscribiendo el crecimiento del micelio del hongo mediante un anillo de plástico. A diferencia de lo que sucede en la planta entera, la ausencia de una barrera mecánica no detuvo la invasión fúngica causando el completo deterioro del callo a las 72 h de la inoculación. Sin embargo, tanto en la zona inoculada como en la adyacente se produjo un incremento de los compuestos fenólicos, en especial de ácido isochlorogénico. Esta reacción bioquímica es similar a la descrita para la planta entera. De todos modos, el incremento en la concentración fenólica fue menor al producido en la planta entera.

INTRODUCTION

The stem rot disease of sunflower (*Helianthus annuus* L.) caused by the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary has widespread distribution in Argentina and other sunflower-producing countries (20, 21, 23). Complete resistance among lines and hybrids does not exist, but rather only different levels of susceptibility (9).

Previous research has shown that in less-susceptible sunflower plants there are two defense mechanisms: a biochemical one, related to the metabolism of phenols (1), and a mechanical one, connected to the histology of the stem (2).

In vitro cell and tissue techniques have been used by different authors in studies of host-pathogen interactions (5, 10). The use of such simplified systems allowed the study of the interaction without complicating of correlative phenomena. In this way, cell lines with resistance to a determined pathogen have been isolated (3, 13), the products of the interaction characterized (8) and the regeneration of resistant individuals obtained from toxin-resistant cell lines (4).

Due to the special characteristics of the dual cultures of the host tissues and any of their pathogens, these kind of cultures have been carried out with obligate parasites (13, 14). However, the development of this technique with another kind of pathogen could improve the knowledge of host-pathogen interaction. This paper describes the achievement of *in vitro* dual culture of *H. annuus* L. tissues and the facultative fungus *S. sclerotiorum*. The existence of the same biochemical reaction for the infected whole plant is also established (1).

MATERIALS AND METHODS

Callus cultures were derived from cotyledons of the sunflower line 500. These calli have been subcultured over four years. The medium composition, procedure and growth conditions were presented in an earlier paper (21).

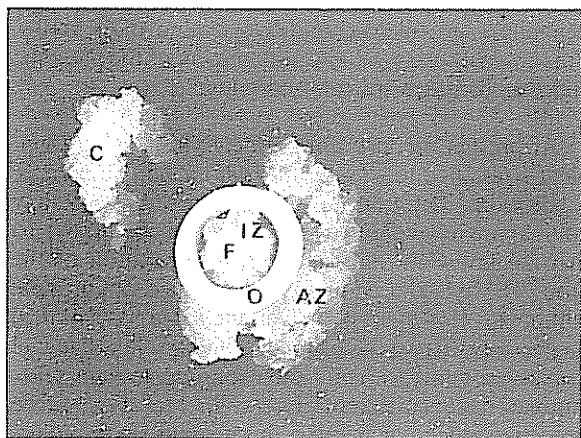
1 Received for publication 18 June 1990.
Grateful thanks are expressed to H.D. Ginzo for statistical assistance, to Carlos Acedo and Pablo Mazzoni for technical assistance and to CARGILL S.A. for the supply of plant material, and Dr. Maria E. Bazzalo, INTA Experiment Station, Balcarce, Buenos Aires, Arg. for the sunflower and calli extracts.

* Centro de Ecofisiología Vegetal, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET)-FECIC-Fund. M. Lillo, Serrano 665-1414, Buenos Aires, Arg.

** Centro de Estudios Farmacológicos y Principios Naturales, CONICET-APEFA, Serrano 665-1414, Buenos Aires, Arg.

The virulent line no. 16 of the fungus *S. sclerotiorum*, kept at the *Centro de Ecofisiología Vegetal* (Buenos Aires, Arg.), was employed in the inoculation. The pathogen was grown on semisolid Hancock medium (11). The inoculum were discs 0.5 cm in diameter of the medium plus the fungal mycelium, cut from the external portion of a seven-day-old colony. The pathogen growth conditions were 24±1°C and a photoperiod of 16 under low light intensity (0.95 W.m.⁻²).

In order to restrict fungal growth, the inoculation was carried out in the center of a 1 cm diameter plastic ring, in such a way as to keep the mycelium in close contact with the callus (Fig. 1). Both the inoculated and the control calli were grown in the same flask (160 ml capacity), with 30 ml of nutrient medium. The extraction of the total soluble phenols was performed 72 h after inoculation. This was carried out by crushing the calli in a pot with 80% methanol (5 ml/g fresh weight of callus) and the boiling the extracts for 2 min, and then centrifuging (3000 rpm) them for 15 minutes. The total phenols of the supernatants were colorimetrically determined at 660 nm after reacting with Folin-Ciocal tea reagent (18).



C: control; IZ: inoculated zone; AZ: adjacent zone; O: plastic ring; F: fungus.

Fig. 1. *H. annuus* callus inoculated with *S. sclerotiorum* mycelium

A standard curve of chlorogenic acid was run for the calculation of the phenol concentrations. The methanolic extracts of both control and inoculated calli were analyzed by two-dimensional descending paper chromatography for the qualitative determination of the phenols. Samples were spotted on Whatman no. 1 paper and the solvent systems were:

- n-butyl-alcohol/glacial-acetic acid/water (6:1:2) and
- a 2% aqueous solution of acetic acid.

Phenols were detected under a UV light (366 nm) before and after fuming the chromatograms with ammonia and characterizing them by the Rf values, UV spectral analysis and co-chromatography with authentic markers (22).

Finally, extracts from both inoculated stem portions of sunflower plants and from calli were co-chromatographed. The experiments were repeated twice and each treatment consisted of at least 30 replicates. Results of the quantitative analysis were submitted to an analysis of variance test.

RESULTS

The inoculation of the callus with the pathogen mycelium provoked changes in its aspect and structure. Color changed from whitish-grey to brown, and the callus acquired a soft and watery consistency. These changes allowed the separation of two neat zones: the inoculated one (IZ) and the rest of the callus (AZ). Due to the virulence of the line, a prolonged dual culture period of more than 72 h caused a complete destruction of the callus. The presence of the fungus caused a significant increase of soluble phenols ($F=24.6$) in both the IZ and AZ zones (Table 1). The chromatographies of the methanolic IZ extracts revealed the presence of several phenolic compounds (Table 2).

In the chromatograms of the controls, some of the spots were sporadically detected. However, those present were the same as those that appeared in the IZ chromatograms. This difference could be due to the small amount of some compounds in the controls just below the resolution of the detection methods employed in the analysis. Spots were arranged in two groups: 1 and 2; 3, 3' and 4. Spots 1 and 2 gave a light

Table 1. Phenols concentration in the different zones of *H. annuus* calli inoculated with *S. sclerotiorum*: Results are expressed as phenols (μ g) per fresh weight: of callus (g).

Callus zone	(Phenols)
Z	1 367 ^a
AZ	787 ^b
Control*	470 ^c

- * (Phenols) of controls were determined in the non-inoculated callus grown in the same flask. Means followed by different letters are statistically significant.

Table 2. Rf values of the different phenolic compounds detected in the IZ of *H. annuus* callus inoculated with *S. sclerotiorum* (for solvent systems, see Materials and Methods).

Spot	Rf value	
	A	B
1	0.45	0.61
2	0.41	0.61
3	0.58	0.12
3'	0.62	0.24
4	0.64	0.34

blue color under UV light, which changed to yellowish when the chromatograms were exposed to NH₄ vapors. The absorption spectra of these compounds in 80% methanol gave a maximum peak at 328 nm. According to Koeppel *et al.* (15, 16, 17), this may correspond to chlorogenic acid. The reactions of spots 3, 3' and 4 were similar to those of chlorogenic acid, although the Rf values were similar to those of the isochlorogenic acid (7, 12).

When the calli extracts were co-chromatographed with extracts of an inoculated zone of a whole plant, the same distribution of spots and reactions was revealed. However, phenol concentrations were quite different. While the IZ extracts contained a mean of initial fresh weight (FW) of 1367 µg/g, extracts from susceptible and tolerant plants had initial FWs of 5000 and 2200 µg/g respectively.

DISCUSSION

Although extensive research has been carried out with *in vitro* dual cultures of obligate parasite-host tissues (5), it is thought that this is the first work with a successful culture of a pertotroph parasite and tissues of one of its hosts. As opposed to *in vitro* cultures of obligate pathogens, the dual cultures of sunflower *S. sclerotiorum* presented the problem of parasite virulence and its readiness to grow in a synthetic medium. For these reasons, was necessary to restrain the fungal growth by inoculating it inside a plastic ring so as showed to isolate the IZ from the rest of the callus.

In spite of the short duration of the dual culture (72 h), the inoculated calli showed the same response to the attack as was observed in the whole plant: activation of the phenolic metabolism, especially of the isochlorogenic acids. Bazzalo *et al.* (1) considered the isochlorogenic acid as a strong inhibitor of mycelial growth, with a ED50 value of 0.3 mg per milliliter.

However, the increment of these compounds was lower compared with that determined in the infected areas of an intact plant, up to a susceptible zone. At the same time, the response was extended to the AZ, as it happened in the adjacent areas of organized tissue, although lacking the organization of a stem. The aliquots of the extracts of the different zones and controls that were chromatographed were chosen on the basis of the phenol concentration in the inoculated zone. This could explain why only some compounds were sporadically present in the chromatograms of control calli. This means that although phenolic compounds were present before inoculation, their concentrations were increased as a consequence of the infection. This is mainly true for the isochlorogenic acid. According to Lutrell (19), *S. sclerotiorum* being a pertotroph pathogen, it kills host tissues before penetration. As a consequence, the increment of the same phenolic compounds in the AZ must be an effect of the presence of the fungus in the inoculated zone. These substances must therefore be considered as anti-fungal (6).

Bazzalo (2) pointed out that the presence of lignin in the cortical tissues of the infected stem could mean a mechanical barrier to the fungal penetration, since the pathogen does not have lignins. As the mechanical barrier is not present in the *in vitro* tissues, fungal penetration provoked a rapid deterioration of the callus. This could explain the lower increment of the phenolic compounds below the inhibitory level.

At present, neither lines nor hybrids having complete resistance to *S. sclerotiorum* are in commercial production. Different levels of susceptibility of any cultivar are related to the environmental conditions (9) that are prevalent during the growing season of the crop. The hybrid used in this work is susceptible to the pathogen. However, it showed the same biochemical mechanism that was determined at the whole plant level in another cultivar (1). New experiments with other cultivars having different susceptibility levels would be needed in order to generalize this response to the attack of the fungus as well as for a better understanding of the basic aspects of the interaction between sunflower and the pathogen.

LITERATURE CITED

1. BAZZALO, M.E.; HIEBER, E.M.; DEL PERO MARIÑEZ, M.A.; CASO, O.H. 1985. Phenolics compounds in stems of sunflower plants inoculated with *Sclerotinia sclerotiorum* and their inhibitory effects on the fungus. *Phytopathologische Zeitschrift* 112:322-332.

2. BAZZALO, M E ; HEBER, E.M; CASO, O H. 1987. Factores físicos y localización anatómica de compuestos fenólicos en relación con la tolerancia del tallo del girasol (*Helianthus annuus*) frente a *Sclerotinia sclerotiorum*, causal de la podredumbre basal. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 25:197-212.
3. BEHNKE, M. 1979. Selection of potato callus for resistance to culture filtrates of *Phytophthora infestans* and regeneration of resistant plants. *The Theoretical and Applied Genetics* 55:69-71.
4. BEHNKE, M. 1980. General resistance to late blight of *Solanum tuberosum* plants regenerated from callus resistant to culture filtrates of *Phytophthora infestans*. *Theoretical and Applied Genetics* 56:151-152.
5. BRETELL, R S ; INGRAM, D S. 1979. Tissue culture in the production of novel disease-resistant crop plants. *Biological Review* 54:329-345.
6. COLLINGE, D B ; SLUZARENKO, J. 1987. Plant gene expression in response to pathogens. *Plant Molecular Biology* 9:389-410.
7. CORSE, J ; LUNDIN, R E ; WAISS, A.C. 1965. Identification of several components of isochlorogenic acid. *Phytochemistry* 4:527-529.
8. CZECH-KOZLOWSKA, M; KRZYWANSKI, Z. 1984. Phenolic compounds and the polyphenoloxidase and peroxidase activity in callus tissue culture pathogen combination of Red Raspberry and *Didymella applanata* (Niessl). *Sacc. Phytopathologische Zeitschrift* 109: 176-182.
9. DUECK, J; CAMPBELL, S J. 1978. Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary in sunflower. In *International Sunflower Conference (8) Proceedings* Minneapolis, Minn, USA p. 305-310.
10. EARLE, E D. 1982. Application of plant cell and tissue culture to agriculture and industry. Ontario, Can, University of Guelph p. 45-62.
11. HANCOCK, J G ; MILLAR R L. 1965. Relative importance of polygalacturonate trans-eliminase and other pectolytic enzymes in southern anthracnose, spring black stem and stemphylium leaf spot of alfalfa. *Phytopathology* 55:346-355.
12. HANSON, K.R ; ZUCKER, H. 1963. The biosynthesis of chlorogenic acid and related conjugates of the hydrocinnamic acids. *Journal of Biological Chemistry* 238:1015-1115.
13. HELGESON, J G ; KEMP, J.D ; HABERLACH, G T ; MAXWELL, D P. 1972. A tissue culture system for studying disease resistance: The black shank disease in tobacco callus cultures. *Phytopathology* 62:1439-1443.
14. INGRAM, D.S. 1980. In tissue culture methods for plant pathologists. D.S. Ingram, J.P. Helgeson (Eds.) Oxford. Blackwell Scientific Publications p. 3-13.
15. KOEPPE, D E ; ROHRBAUGH, L M ; WENDER, S.H. 1969. The effect of varying UV intensities on the concentration of scopolin and caffeoylquinic acids in tobacco and sunflower. *Phytochemistry* 8:889-896.
16. KOEPPE, D E ; ROHRBAUGH, L M ; RICE, E L ; WENDER, S.H. 1970. Tissue age and caffeoylquinic acid concentration in sunflower. *Phytochemistry* 9:297-301.
17. KOEPPE, D.E ; SOTHIWICK, V ; BITTELL, S.E. 1976. The relationship of tissue chlorogenic acid concentration and learning of phenolics from sunflowers grown under varying phosphate nutrient conditions. *Canadian Journal of Botany* 54:593-599.
18. KRITZMAN, G; CHET, I. 1980. The role of phenols in the pathogenicity of *Botrytis alli*. *Phytoparasitica* 8:27-37.
19. LUTRELL, E S. 1974. Parasitism of fungi on vascular plants. *Mycologia* 66:1.
20. NELSON, B ; LAMEY, H A. 1984. Sclerotinia diseases of sunflower. Cooperative Extension Service. North Dakota State University.
21. PIUBELLO, S M ; CASO, O H. 1986. In vitro culture of sunflower (*Helianthus annuus* L.) tissues. *Phyton* 46:131-137.
22. RIBEREAU-GAYON, P. 1972. Plants phenolics. Edinburgh, Oliver and Boyd.
23. VRANCEANU, A V. 1977. El girasol. Madrid, Mundi-Prensa.

Efecto del Pastoreo sobre la Tasa de Acumulación Neta en Pasturas de *Lotus corniculatus*¹

S.G. Assuero*, C.J. Escuder**, F. Andrade**,
O. Fernández***, H. Fernández**

ABSTRACT

An experiment was carried out at the EEA Balcarce between 26 January and 12 May 1988 to study the effect of different grazing intensities on late summer/early autumn net accumulation of a *Lotus corniculatus* L. Three treatments in three blocks were tested: no grazing (T₁) and grazing leaving stubble height of either 15 cm (T₂) or 7 cm (T₃). To maintain the established heights, two to six sheep per plot were grazed noncontinuously between 26 January and 29 April 1988. Mean net accumulation rate (TMAN), relative net accumulation rate (TANR) and mean net assimilation rate (TMA_sN) were estimated in three successive periods. None of the above-mentioned rates showed a significant interaction ($p > 0.05$) looking at treatment x period. The TMAN presented nonsignificant differences ($p > 0.05$) between the treatments and the periods. The TANR (%/day) was higher ($p < 0.05$) in T₂ and T₃ than in T₁, and greater ($p < 0.05$) in the first period than in the third. The TMA_sN (mg/mm²/day) presented significant differences ($p < 0.05$) between treatments. It is concluded that under the conditions of this experiment, the increase in grazing intensity during late summer/early autumn did not modify the TMAN, but did modify the TANR and the TMA_sN of this species.

Key words: *Lotus corniculatus* L., net accumulation, grazing.

COMPENDIO

En la Estación Experimental Agropecuaria (EEA), Balcarce, Arg., se realizó un experimento para estudiar el efecto de distintas intensidades de pastoreo sobre la acumulación neta de fin de verano y el principio de otoño de una pastura de *Lotus corniculatus* L. El ensayo se realizó entre el 26 de enero y el 12 de mayo de 1988 en una pastura pura, sembrada durante la primavera de 1987. Se probaron tres tratamientos en bloques con tres repeticiones: no pastoreo (T₁), alturas remanentes del canopeo con aproximadamente 15 cm (T₂) y 7 cm (T₃). El pastoreo se efectuó en forma discontinua con dos a seis ovinos por parcela, procurando mantener las alturas establecidas, desde el 26 de enero al 29 de abril de 1988. La tasa media de acumulación neta (TMAN), la tasa de acumulación neta relativa (TANR) y la tasa media de asimilación neta (TMA_sN) fueron estimadas en tres períodos sucesivos. Ninguna de las tasas presentó interacción significativa ($p > 0.05$) en tratamiento por período. La TMAN no varió entre tratamientos ni períodos ($p > 0.05$). La TANR (% d⁻¹) fue superior ($p < 0.05$) en T₂ y T₃ y mayor ($p < 0.05$) en el T₁ que en el tercer período. La TMA_sN (mg/mm²/d) presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos. En las condiciones del ensayo, el aumento de la intensidad de pastoreo durante fin de verano y otoño no modificó la TMAN, pero sí la TANR y la TMA_sN de especie estudiada.

Palabras claves: *Lotus corniculatus* L., acumulación neta, pastoreo.

INTRODUCCION

Lotus *corniculatus* L. es una leguminosa de uso común en la zona templada y húmeda de Argentina. Sin embargo, la información sobre su comportamiento en el sureste bonaerense, especialmente en condiciones de pastoreo, es escasa.

En los últimos treinta años, diversas hipótesis han tratado de explicar el crecimiento de las pasturas como respuesta a diferentes intensidades de defoliación (19). Una de ellas argumenta que el control de la tasa de rebrote posterior es ejercido por el área foliar remanente (3). Sin embargo, la eficiencia fotosintetizante de ese material remanente puede ser muy variable. En consecuencia se consideró relevante para establecer normas de manejo de la especie, recolectar información local del impacto de la intensidad de pastoreo sobre la acumulación neta de forraje.

1 Recibido para publicación el 24 de mayo de 1990.

* Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Mar del Plata, c.c. 276, (7620) Balcarce, Arg.; Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA), Balcarce, Arg.

** INTA, EEA, Balcarce, c.c. 276, (7620) Balcarce, Arg.

*** Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Mar del Plata, c.c. 276, (7620) Balcarce, Arg.

MATERIALES Y METODOS

Condiciones experimentales

El experimento se realizó en la EEA de Balcarce del INTA (lat. 37°45' S, long 58°18' O, altitud 97 msnm),

en un suelo Natracuol típico (16). El clima del área es templado-lluvioso, con temperaturas medias entre 7.4°C en julio y 20.3°C en enero. La precipitación anual promedio es de 954 milímetros.

En la primavera de 1987 se sembró *L. corniculatus* puro, manteniendo una densidad de 8 kg/ha, inoculado con un aislamiento local de *Rhizobium loti*. El contenido de fósforo asimilable fue de 15.8 ± 7.4 partes por millón.

El área se dividió en tres bloques de tres parcelas cada uno, cuya superficie fue de 250 m².

Tratamientos

Se aplicaron tres tratamientos: T₁, clausura sin pastoreo; T₂, pastoreo con forraje residual hasta 15 cm de altura y T₃, con 7 cm aproximadamente de alto. El pastoreo se realizó con ovejas, en forma discontinua, entre el 26 de enero y el 29 de abril de 1988. La entrada y salida de los animales se reguló con base en estimaciones visuales periódicas de la altura de la fitomasa aérea para mantener las condiciones preestablecidas.

Determinaciones

Tasa media de acumulación neta. La TMAN se estimó empleando el método de "jaulas transitorias" (13). El día cero de cada período fueron ubicados, aleatoriamente, seis lugares por parcela; se colocó un marco cuadrado de 20 cm de lado y se buscó una submuestra similar a la delimitada por él. Esta última se cortó para obtener la estimación de peso y composición inicial, mientras que en la primera se fijó la "jaula de exclusión". Las jaulas empleadas interceptaban del 12.5% al 20.0% de la radiación incidente durante el mediodía. Al final de cada período se volvió a ubicar el marco en el lugar donde había permanecido excluido por la jaula y se cortó el material contenido en él.

Los muestreos se llevaron a cabo en las siguientes fechas: del 3 al 5 de febrero; del 1 al 3 de marzo; del 5 al 7 de abril y del 10 al 12 de mayo de 1988. En laboratorio, el material de cada submuestra fue pesado en fresco, antes y después de escoger tres plantas representativas. Posteriormente se secó en estufa de aire forzado a 60°C hasta peso constante y se estimó el rendimiento en materia seca (MS) de cada corte. Con las plantas seleccionadas se realizó la separación manual de las hojas verdes y el material muerto. Estas fracciones se secaron en forma similar a la descrita anteriormente.

La TMAN para cada período se calculó de acuerdo con Hunt (10). Para determinar el índice de área foliar (IAF) de cada submuestra se calculó su área foliar multiplicando el peso (g . MS) de la fracción de hoja por el área foliar específica (AFE, cm² . g MS de hoja) correspondiente. Para establecer el valor de esta última variable se extrajo de cada submuestra una alícuota de hojas frescas (5g - 25 g . MS) a la que se midió el área foliar con un fotoplanímetro marca LICOR LI-3000 antes de someterla a secado en estufa a 100°C hasta peso constante.

Tasa de acumulación neta relativa (TANR). También se estimó, a partir de TMAN, partiendo de la tasa de productividad relativa (15).

Tasa media de asimilación neta (TMAN). Se estimó de acuerdo a Radford (14).

Porcentaje de cobertura del cultivo. En cada fecha de muestreo se tomaron, aleatoriamente, dos diapositivas verticales de un marco rectangular de alambre de 30 cm x 45 cm sobre la pastura de cada parcela.

Posteriormente, las diapositivas se proyectaron sobre una lámina marcada previamente por 100 puntos dispuestos en una grilla. Se contabilizaron todos los puntos que coincidían con material de *Lotus* vivo.

Análisis estadístico

Las variables fueron analizadas con un modelo de parcelas divididas en el tiempo. En todos los casos se analizaron los valores promedio de las submuestras de cada parcela, las cuales se calcularon descartando las submuestras consideradas "outliers", de acuerdo con la metodología propuesta por Li (12) en un nivel de significación del uno por ciento.

En los casos en los que se detectó interacción tratamiento por período de tiempo (o fecha de muestreo) significativa ($p < 0.05$), se efectuaron análisis de variancia para cada período y nivel de tratamiento en forma separada (5). Entonces se empleó un modelo de bloques completos aleatorizados.

RESULTADOS

Fitomasa aérea

El peso seco aéreo total, el material vivo aéreo y las fracciones hoja y tallo no presentaron interacción significativa entre tratamiento por fecha de muestreo ($p > 0.05$). Como se esperaba, el efecto del tratamiento

fue significativo ($p < 0.05$), registrándose los mayores valores de estas variables en T₁ y los menores en T₃ (Cuadro 1A). No se hallaron diferencias ($p > 0.05$) entre fechas para ninguno de los componentes considerados (Cuadro 1B).

Cuadro 1. Peso seco total, material vivo, hoja, tallo y material muerto (g M.S./0.04 m²). A. Efecto de tratamiento. B. Efecto de fecha.

A				
Variable	Tratamiento			E.E.
	T ₁	T ₂	T ₃	
M.S. total	16.10 a	13.06 b	7.37 c	0.63
M.S. vivo	14.12 a	10.64 b	5.55 c	0.60
M.S. hoja	3.79 a	2.44 b	0.71 c	0.17
M.S. tallo	9.15 a	8.04 a	4.80 b	0.57

B				
Variable	Fecha			E.E.
	03-05/02	01-03/03	05-07/04	
M.S. total	11.36	13.34	11.83	0.97
M.S. vivo	9.88	11.53	8.91	0.96
M.S. hoja	2.32	2.56	2.05	0.34
M.S. tallo	7.27	8.03	6.69	0.64

Notas:

- a,b,c. Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos.
 e,d. Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre fechas
 E.E. Error estándar.

Componentes de la fitomasa aérea (%)

Los porcentajes de material vivo y de material muerto en la fitomasa aérea no manifestaron interacción entre tratamiento por fecha ($p > 0.05$). Tampoco fue significativo el efecto del tratamiento ($p > 0.05$), tal como se observa en el Cuadro 2A. En cambio, sí se hallaron diferencias significativas entre fechas ($p < 0.05$), produciéndose una disminución en el porcentaje de material vivo con el transcurso del tiempo y el avance del ciclo fenológico de la especie. Con el material muerto ocurrió lo contrario (Cuadro 2B).

En el porcentaje de hoja se registró una interacción entre tratamiento por fecha significativa ($p < 0.05$). Cuando se analizó la interacción, se encontró que el efecto de tratamiento dentro de fecha fue importante ($p < 0.05$); solo en febrero, todos los tratamientos

Cuadro 2. Porcentajes de material vivo y muerto en la fitomasa aérea. A. Efecto de tratamiento. B. Efecto de fecha.

A				
Variable	Tratamiento			E.E. (%t)
	T ₁ (%*)	T ₂ (%)	T ₃ (%)	
Material vivo	87.6	82.5	72.7	2.2
Material muerto	12.4	17.5	27.3	2.2

B				
Variable	Fecha			E.E. (%)
	03-05/02 (%)	01-03/03 (%)	05-07/04 (%)	
Material vivo	86.7 d	82.3 d	73.8 e	1.6
Material muerto	13.3 c	17.7 e	26.2 d	1.6

Notas:

- d,e. Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre fechas.
 * Porcentajes transformados (arco seno $\sqrt{(\% \times 0.01)}$).
 E.E. Error estándar.

difierieron entre sí (Cuadro 3). Por otro lado, cuando se analizó el efecto de fecha dentro de tratamiento, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre febrero y abril en T₃.

Cuadro 3. Efecto del tratamiento y la fecha de muestreo sobre el porcentaje de hoja.

Fecha	Tratamiento			E.E. (%t)
	T ₁ (%*)	T ₂ (%)	T ₃ (%)	
03-05/02	32.6 a	18.9 b	4.0 ce	2.11
01-03/03	24.0	19.1	9.6 de	2.43
05-07/04	17.7	17.3	16.2	2.95
E.E.	2.0	2.7	1.8	

Notas:

- a,b,c. Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos.
 e,d. Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre fechas
 * Porcentajes transformados (arco seno $\sqrt{(\% \times 0.01)}$).
 E.E. Error estándar.

Area foliar específica e índice de área foliar

EL AFE no presentó interacción significativa ($p>0.05$) de tratamiento por período. El efecto del tratamiento fue significativo ($p<0.05$), registrando T₃ un valor inferior a los otros tratamientos (Cuadro 4A). También fue relevante el efecto de período ($p<0.05$), siendo el valor del mes de abril superior al de los meses precedentes (Cuadro 4B).

El IAF tampoco tuvo una interacción importante ($p>0.05$) tratamiento por período. Sí fue significativa ($p<0.05$) cuando el valor de IAF disminuyó con el aumento de la intensidad de pastoreo (Cuadro 5A). Contrariamente, la fecha de muestreo no manifestó ningún efecto ($p>0.05$), (Cuadro 5B).

Porcentaje de cobertura del cultivo

El porcentaje de cobertura del suelo de *Lotus* registró una interacción notoria ($p<0.05$) de tratamiento por período. El efecto de tratamiento fue manifiesto ($p<0.05$) únicamente en el mes de marzo, cuando T₃ presentó el menor porcentaje (Cuadro 6). Por otra parte, el efecto fecha de muestreo sí fue significativo ($p<0.05$) en T₁ y T₃ (Cuadro 6).

Cuadro 4. Area foliar específica (cm²/g). A. Efecto de tratamiento. B. Efecto de fecha.

A			
Tratamiento			
T ₁	T ₂	T ₃	E.E.
289.9 a	291.2 a	236.9 b	6.8
B			
Fecha			
3-5/02	1-3/03	5-7/04	E.E.
259.8 d	235.9 d	322.4 c	11.8

Notas:

- a,b,c. Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p<0.05$) entre tratamientos.
 c,d. Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p<0.05$) entre fechas.
 E.E. Error estándar.

Cuadro 5. Índice de área foliar. A. Efecto de tratamiento. B. Efecto de fecha.

A			
Tratamiento			
T ₁	T ₂	T ₃	E.E.
2.51 a	1.78 b	0.46 c	0.11
B			
Fecha			
3-5/02	1-3/03	5-7/04	E.E.
1.54	1.65	1.56	0.27

Notas:

a,b,c. Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p<0.05$) entre tratamientos.

E.E. Error estándar.

Cuadro 6. Efecto del tratamiento y la fecha de muestreo sobre la cobertura del cultivo.

Fecha	Tratamiento			E.E. (%)
	T ₁ (%*)	T ₂ (%)	T ₃ (%)	
03-05/02	88.8 d	85.8	79.3 d	3.4
01-03/03	87.8 ad	75.2 a	39.8 bf	4.5
05-07/04	71.7 e	79.5	73.3 de	3.2
10-12/05	66.7 e	68.3	59.8 ef	1.3
E.E.	3.2	5.0	3.5	

Notas:

a,b,c. Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p<0.05$) entre tratamientos.

e,d,f. Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p<0.05$) entre fechas.

* Porcentajes transformados (arco seno $\sqrt{(\% \times 0.01)}$).

E.E. Error estándar.

Tasa media de acumulación neta

La TMAN no registró interacción significativa ($p>0.05$) debido al tratamiento por subperíodo. Como se observa en el Cuadro 7, tampoco fueron significativos ($p>0.05$) los efectos del tratamiento ni del período.

Cuadro 7. Tasa media de acumulación neta (TMAN), tasa de acumulación neta relativa (TANR) y tasa media de asimilación neta (TMA_sN) de *L. corniculatus* estimadas de febrero a mayo en tres condiciones de defoliación.

	TMAN (kg M.S./ha/día)	TANR (%/día*)	TMA _s N (mg/mm ² /día)
T ₁	30.7	0.50 b	0.001 c
T ₂	41.1	1.03 a	0.002 b
T ₃	45.7	1.81 a	0.005 a
E.E.	4.9	0.55	2.0 x 10 ⁻⁴
02/88-03/88	48.5	1.45 d	0.003
03/88-04/88	43.7	1.16 de	0.002
04/88-05/88	25.3	0.72 e	0.002
E.E.	6.3	0.63	4.9 x 10 ⁻⁴

Notas:

- a,b,c Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0.05) entre tratamientos.
 d,e Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0.05) entre subperiodos.
 * Los valores entre paréntesis corresponden a los porcentajes transformados (arco seno $\sqrt{\% \times 0.01}$).
 E.E Error estándar.

Tasa de acumulación neta relativa

Por su parte, la TANR no presentó interacción de tratamiento por periodo (p>0.05). La clausura registró la menor TANR (p<0.05 Cuadro 8). El valor de esta variable, semejante a la tasa de acumulación neta, fue disminuyendo con el transcurso del tiempo (P<0.05), (Cuadro 7).

Tasa de asimilación neta

Se encontró que el IAF se relacionó en forma lineal con la cantidad de MS total de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$y = 0.062 + 0.1 \times n = 502 \quad r = 0.65 \quad (p < 0.05)$$

donde:

- y: IAF;
 x: materia seca total (g/0.04 m²).

La interacción tratamiento por periodo de la TMA_sN no fue significativa (p>0.05). Contrariamente fueron significativas (p<0.05) las diferencias entre

tratamientos (Cuadro 7), presentando T₃ el mayor valor de TMA_sN. Por otra parte, la diferencia entre periodos no llegó a ser significativa (p>0.05).

DISCUSION

Fitomasa aérea y componentes del peso seco

Con el aumento en la intensidad de pastoreo, el porcentaje de material vivo tendió a disminuir (Cuadro 2A), aunque no significativamente. Por el contrario, se registró una reducción importante del mismo con el transcurso del tiempo, cayendo de aproximadamente 87% en febrero hasta 74% en abril (Cuadro 2B).

En relación con el porcentaje de hoja, se encontraron diferencias únicamente en el mes de febrero, decreciendo su valor con el incremento de la severidad del pastoreo (Cuadro 3). Sin embargo, el porcentaje de hoja aumentó progresivamente en las parcelas pastoreadas, hasta llegar a alcanzar valores semejantes a los de T₁ en el mes de abril. Este hecho puede ser atribuido a dos factores, en primer lugar, al cambio en el hábito de crecimiento de la especie como respuesta al pastoreo. Se pudo observar en los tratamientos pastoreados, especialmente en T₃, que las plantas modificaron su porte, volviéndose más prostradas. Hodgkinson y Williams (8) citan un gran número de trabajos en los que se comprueba que las plantas forrajeras sufren modificaciones de forma y función como consecuencia del pastoreo. En segundo lugar, el sombreado probable en T₁ pudo causar una mayor pérdida de hojas por senescencia, por lo que el porcentaje de este componente disminuyó con el tiempo.

Area foliar específica e índice de área foliar

Se ha demostrado que AFE es altamente sensible a cambios ambientales y muy propensa a variar con la ontogenia. Esta característica podría ser interpretada como una adaptación mediante la cual la planta tendría la posibilidad de mantener su capacidad productiva frente a distintos regímenes de defoliación, a cambios en las condiciones ambientales, a cambios inherentes a la edad de la planta, o a una combinación de estos factores (4, 7).

En este experimento, las diferencias en IAF ante la aplicación de los tratamientos se mantuvieron durante el periodo de crecimiento considerado (Cuadros 4 y 5). El IAF promedio registrado en T₁ fue 1.4 y 5.7 veces superior a los observados en T₂ y T₃, respectivamente.

Porcentaje de cobertura del cultivo

En ninguno de los tratamientos el porcentaje de cobertura superó el 89% (Cuadro 6). Los valores obtenidos indican que bajo ningún tratamiento el cultivo pudo expresar su tasa máxima de crecimiento potencial (4).

A pesar de que la interacción tratamiento por fecha de muestreo fue significativa ($p < 0.05$), en todos los tratamientos se disminuyó la cobertura con el transcurso del tiempo; además difirieron entre sí únicamente en marzo, cuando T₃ presentó el valor más bajo (39.8%) porque la alta intensidad de pastoreo soportada dejó al descubierto una gran proporción de suelo desnudo.

En abril se observó una gran recuperación de las plantas, que fueron sometidas a la defoliación más severa, las cuales cambiaron su hábito de crecimiento, llegando a alcanzar un porcentaje de cobertura cercano al 75 por ciento. Finalmente, durante mayo, esta variable registró un valor próximo al 65% en todos los tratamientos. Este valor puede atribuirse, fundamentalmente, al aumento en la cantidad de material muerto y, en menor grado, a la presencia de malezas.

Tasa media de acumulación neta

Greub y Wedin (6) encontraron que, durante la primera semana de rebrote hasta el fin de verano, las tasas medias de crecimiento estuvieron asociadas a los tratamientos con mayor altura de corte, pues estos presentaron mayor área foliar remanente y mayor cantidad de yemas axilares. En este ensayo, por el contrario, las tasas de acumulación netas estimadas mostraron una tendencia no significativa a aumentar con la severidad de la defoliación. En estas condiciones puede argumentarse que la falta de área foliar y la presumible carencia de yemas activas debieron ser compensadas por una mayor eficiencia foliar, tal como lo manifestaron las tasas de asimilación neta y de acumulación neta relativa calculadas.

Los resultados alcanzados en este experimento difieren de los de Vickery (19), quien encontró que la producción primaria neta de una pastura de falaris y trébol blanco fue mayor con cargas intermedias que con altas o bajas, mientras que en otoño la producción fue superior con cargas intermedias y bajas. Por otra parte, King *et al.* (11) encontraron que la fotosíntesis neta de una pastura de raigrás en verano-otoño disminuyó a medida que aumentó la carga y cayó el IAF. La aparente discrepancia entre los resultados obtenidos en estos experimentos podría deberse a diferencias en las metodologías empleadas, a las distintas especies for-

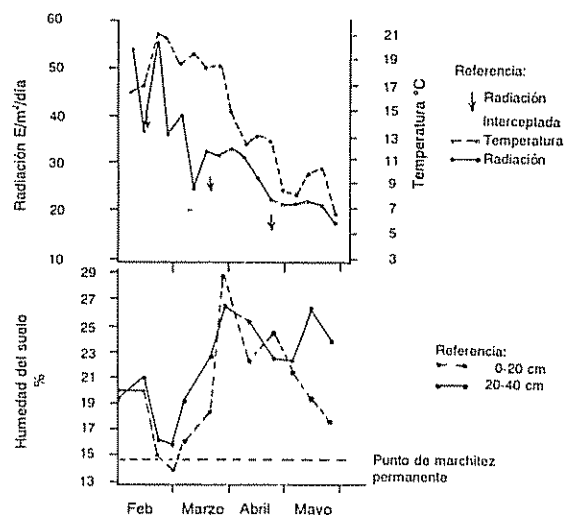


Fig. 1. Evolución de la temperatura media, radiación (densidad de flujo de fotones fotosintéticos) y porcentaje de humedad del suelo del periodo febrero-mayo de 1988.

rajeras consideradas y a las condiciones ambientales particulares de cada ensayo.

Por otra parte, las tasas de acumulación neta disminuyeron, pero fue importante con el transcurso del tiempo por el avance del ciclo del cultivo, la reducción en la temperatura media del aire y la merma en la densidad del flujo de fotones fotosintéticamente activos (Cuadro 7, Fig. 1).

Tasa de acumulación neta relativa y tasa media de asimilación neta

La TANR fue inferior en la clausura que en los tratamientos bajo pastoreo, que atribuye a los valores más elevados de la tasa media de asimilación neta.

LA TMA_sN fue mayor en T₃ que en los restantes tratamientos. Consecuencias similares fueron detectadas por Greub y Wedin (6), quienes observaron, igual que Hodgkinson *et al.* (7), que la eficiencia disminuía con el transcurso del tiempo durante el rebrote, indicando que, tanto la eficiencia fotosintética de las nuevas hojas como el de las remanentes, también decrecían en poco tiempo, o que el sombreado rápidamente limitaba la fotosíntesis de las hojas inferiores. En este experimento, sin embargo, el IAF de T₃ durante todo el período considerado se mantuvo bajo y, por eso, el sombreado probablemente no llegó a alcanzar niveles de importancia. Este hecho contribuyó a que las plantas sometidas a T₃ mantuvieron la TMA_sN alta durante el período considerado, en relación con los otros tratamientos.

CONCLUSION

Las tasas medias de acumulación neta no fueron significativamente diferentes, cuando se estimaron durante el período febrero-mayo, en pasturas de *L. corniculatus* con distintas intensidades de pastoreo. Este resultado podría deberse a una mayor eficiencia de las hojas de plantas defoliadas intensamente, lo cual estaría de acuerdo con los valores estimados de TANR y TMA_{SN}. Sin embargo se debe considerar que los elevados coeficientes de variación que se registran en este tipo de experimento podrían ser también los responsables.

LITERATURA CITADA

1. BIRCHAM, J.S.; HODGSON, J. 1983. The influence of sward condition on rates of herbage growth and senescence in mixed swards under continuous stocking management. *Grass and Forage Science* 38:323-331.
2. DAVIDSON, J.L. 1969. Growth of grazed plants. *Proc Aust. Grassl* 2:125-136.
3. GARDNER, F.P.; PEARCE, R.B.; MITCHER, R.L. 1985. *Physiology of crops plants*. Ames, Iowa State University 327 p.
4. GILL, J.L. 1981. Repeated measurements and split-plot designs. In *Design and analysis of experiments in the animal and medical sciences*. Ames, Iowa State University. v. 11, p. 169-259.
5. GREUB, L.J.; WEDIN, W.F. 1971. Leaf area, dry-matter production, and carbohydrate reserve levels of birdsfoot trefoil as influenced by cutting height. *Crop Science* 11:734-738.
6. HODGKINSON, K.C.; SMITH, N.G.; MILES, G.E. 1972. The photosynthetic capacity of stubble leaves and their contribution to growth of the lucerne plant after high level cutting. *Australian Journal of Agricultural Research* 23:225-238.
7. HODGKINSON, K.C.; WILLIAMS, O.B. 1983. Adaptation to grazing in forage plants. In *Genetic resources of forage plants*. J.G. McIvor, R.A. Bray (Eds.) Melbourne, Australia, CSIRO. p. 85-100.
8. HODGSON, J. 1979. Nomenclature and definitions in grazing studies. *Grass and Forage Science* 34:11-18.
9. HUNT, R. 1981. *Plant growth analysis*. Carnelot, Lathampton. 67 p.
10. KING, J.; LAMB, W.I.C.; MC GREGOR, T. 1979. Regrowth of ryegrass swards subject to different cutting regimes and stocking densities. *Grass and Forage Science* 34:107-118.
11. LI, J.C.R. 1964. Miscellaneous methods. In *Statistical inference*. Edwards Brothers. v. 1, p. 548-565.
12. MANNETJE, L.T. 1978. Measuring quantity of grassland vegetation. Hurley, Commonwealth Bureau of Pastures and Field Crops. Bulletin no 52.
13. RADFORD, P.J. 1967. Growth analysis formulae: Their use and abuse. *Crop Science* 7:171-175.
14. SALA, O.; DEREGIBUS, V.A.; SCHLICHTER, I.; ALIPPE, H. 1981. Productivity dynamics of a native temperate grassland in Argentina. *Journal of Range Management* 34:48-51.
15. SOIL SURVEY STAFF. 1975. *Soil taxonomy: A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys*. United States Department of Agriculture, Soil Conservation Service. Handbook no 436. 754 p.
15. STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. 1980. *Principles and procedures of statistics*. 2 ed. New York, McGraw Hill. 633 p.
17. VICKERY, P.J. 1972. Grazing and net primary production of a temperate grassland. *Journal of Applied Ecology* 9:307-314.
18. WADDINGTON, J.; COOKE, D.A. 1971. The influence of sample size and number on the precision of estimates of herbage production and consumption in two grazing experiments. *Journal of the British Grassland Society* 26:95-101.

Variabilidade do Teor de Cafeína em Sementes de Café¹

P. Mazzafera*, A. Carvalho**,
L. C. Fazuoli**, H. P. Medina Filho**

ABSTRACT

Due to increasing consumption of decaffeinated coffee, the search for naturally low-caffeine *C. arabica* variants has become important, and breeding programs with this objective have been developed. The present study analyzed seed caffeine content of over 500 individuals, including advanced breeding lines, land races and, among others, accessions from India, Ethiopia, Kenya and Saudi Arabia, all in the germ plasm bank of the Genetics Department of the Instituto Agronômico de Campinas. Except for the low-caffeine var. Laurina (0.7%) of *C. arabica* and the high-caffeine *Coffea canephora* hybrids, most individuals were in the mean range of 1.0 to 1.2%. The highest value (1.7%) was observed in the seeds of an Icatu line, while the lowest (0.8%) was noted in var. Bourbon Amarelo of *C. arabica*. Considering the great number of individuals, the diversity of the *C. arabica* germ plasm analyzed and the lack of variability for low caffeine content observed in this species, it is suggested that breeding programs to achieve the less than 0.7% caffeine found in var. Laurina should be based on crosses of this variety with other *Coffea* species.

Key words: *Coffea arabica*, interespecific hybrids, caffeine.

RESUMO

Devido à crescente demanda no consumo de café descafeinado, o estudo da variabilidade do conteúdo desse alcalóide no germoplasma de café é de grande importância. Programas de melhoramento visando cafeeiros com baixos teores de cafeína nas sementes depende dessas informações. Neste trabalho analisou-se o teor de cafeína em sementes de mais de 500 cafeeiros da Seção de Genética do Instituto Agronômico de Campinas, a grande maioria de *Coffea arabica*, compreendendo seleções avançadas, cultivares antigos e, entre outros, introduções da Índia, Etiópia, Quênia e Arábia Saudita, pertencentes ao banco de germoplasma. Com exceção da variedade Laurina de *C. arabica*, com baixo teor (0.7%) e híbridos de *C. canephora*, com valores mais elevados, a maioria dos indivíduos apresentou teores de cafeína ao redor de 1.0% e 1.2%. Foi observado em um cafeeiro da variedade Icatu o maior teor (1.7%) e em um da variedade Bourbon Amarelo o menor (0.8%). Considerando o grande número de indivíduos, a diversidade do germoplasma de *C. arabica* analisado e a falta de variabilidade para baixo teor de cafeína encontrada nessa espécie, sugere-se que um programa de melhoramento visando teores abaixo de 0.7% encontrado no Laurina, seja baseado em cruzamentos dessa variedade com outras espécies de *Coffea*.

Palavras chave: *Coffea arabica*, híbridos interespecíficos, cafeína.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem-se notado crescente preocupação com a qualidade dos produtos alimentícios consumidos. Com o avanço tecnológico e com a possibilidade de estudos mais detalhados sobre a composição de alimentos e bebidas, novas pesquisas na área de fisiologia animal vêm sendo conduzidas, a fim de se avaliar o efeito de determinadas substâncias na saúde humana.

No que diz respeito à cafeína do café, a crescente procura pelo produto descafeinado nos mercados internacionais representa para a indústria do café um novo

e promissor mercado. A cafeína do café é extraída industrialmente pelo emprego de solventes orgânicos, o que encarece o preço do produto. A cafeína extraída é purificada e utilizada por indústrias de refrigerantes e de fármacos. Dessa forma, para os países produtores cultivares geneticamente melhorados, com alto ou baixo teor de cafeína, seriam uma excelente alternativa, independentemente da preferência do mercado interno.

O presente trabalho apresenta os resultados de análises do teor de cafeína em mais de 500 cafeeiros, na sua maioria de *C. arabica*, pertencentes ao programa geral de melhoramento do cafeeiro da Seção de Genética do Instituto Agronômico de Campinas. Além de ter sido estudada a variabilidade de cafeína em material pertencente ao banco de germoplasma, análises também foram feitas em cafeeiros em avançado estágio de seleção para produtividade, a fim de se obterem informações sobre o conteúdo de cafeína que apresentam.

¹ Recebido para publicação em 9 de outubro de 1990.
Trabalho financiado pela FINEP.

* Depto Fisiol. Vegetal, IB, UNICAMP, CP 6109, CEP 13081, Campinas, SP, Bra.

** S. Genética, Instituto Agronômico, CP28, CEP 13100, Campinas, SP, Bra. Com bolsa do CNPq.

MATERIAL E MÉTODOS

Frutos maduros foram colhidos de cafeeiros de diferentes experimentos de progênies, preferencialmente daqueles mais produtivos. A maioria dos indivíduos pertenciam a *C. arabica*, sendo que alguns eram híbridos dessa espécie com outras espécies de *Coffea*.

Após beneficiadas, as sementes foram secas em estufa a 80°C por uma semana. Depois de moídas finamente, foram extraídas com clorofórmio sob refluxo e, após diluição apropriada, determinou-se as absorvâncias em 257 nm, 277 nm e 297 nm em espectrofotômetro, conforme o método modificado de Kum-Tatt (12) para determinação de cafeína. Devido a boa repetibilidade dos resultados desse método

decidiu-se pela realização de três repetições por amostra de café, uma vez que raramente fora observadas variações acima de 5% dos valores obtidos, normalmente não ultrapassando 3%.

A fim de se conhecer a variação no teor de cafeína de um ano para outro, em algumas variedades foram realizadas análises de sementes provenientes de dois anos diferentes.

RESULTADOS

A variedade Icatu de *C. arabica*, derivada de retrocruzamentos para essa espécie de um híbrido interespecífico com *C. canephora*, representou o maior

Quadro 1. Teor de cafeína em híbridos interespecíficos e seus retrocruzamentos para *C. arabica*.

Híbrido	Retro (núm.)	Geração ¹	Plantas analisadas (núm.)	Cafeína ² (%)	Desvio padrão	Amplitude de variação (%)
<i>C. arabica</i> X <i>C. canephora</i> DP ^{3,4}						
H3849	1	2	7	1.298	0.152	1.124 - 1.553
H3849	1	3	3	1.421	0.310	1.164 - 1.766
H3851	1	2	23	1.265	0.159	0.963 - 1.524
H4782	2	2	53	1.116	0.136	0.859 - 1.507
H4782	2	3	32	1.095	0.821	0.821 - 1.686
H4782	2	4	73	1.169	0.210	0.868 - 1.742
H11742	3	2	1	1.069	—	—
<i>C. arabica</i> X <i>C. racemosa</i> DP						
C1195	1	2	2	1.037	—	0.911 - 1.162
C1195	2	3	5	1.230	0.149	0.985 - 1.389
H11536	3	2	5	1.128	0.225	0.903 - 1.377
H11877	3	1	7	1.129	0.144	0.958 - 1.304
H12037	3	3	4	1.139	0.072	1.071 - 1.240
<i>C. arabica</i> X <i>C. eugenioides</i> DP						
H13235	1	1	1	1.038	—	—
H13252	1	1	1	1.069	—	—
<i>C. arabica</i> X <i>C. canephora</i>						
	0	—	6	1.713	0.076	1.601 - 1.796

1 Após o retrocruzamento (retro).

2 Média de três repetições.

3 Linhagens da variedade Icatu de *C. arabica*.

4 DP = número duplicado de cromossomos.

número de indivíduos analisados (Quadro 1). Essa variedade mostrou grande variação não somente entre cafeeiros de uma mesma linhagem, assim como entre linhagens diferentes. A terceira geração de H3849 apresentou o cafeeiro com maior teor de cafeína. A quarta geração de H4782 foi a que apresentou a maior amplitude de variação enquanto que na sua terceira geração encontrou-se o cafeeiro com menor conteúdo do alcalóide. De modo geral, o teor médio de cafeína nas linhagens de Icatu foi de 1.2%.

Para os híbridos interespecíficos entre *C. arabica* com *C. racemosa*, o valor médio foi ao redor de 1.1% com amplitude de variação bastante semelhante entre as linhagens. Os dois híbridos de *C. arabica* com *C. eugenioides* apresentaram teor de cafeína próximo a 1%, em quanto que um híbrido triplóide apresentou teor médio de 1.713% intermediário entre *C. arabica* e *C. canephora*.

O Quadro 2 mostra a variabilidade de cafeína em introduções da Etiópia, agrupadas em função da região de origem. No total foram analisados 36 cafeeiros,

Quadro 2. Teor de cafeína em introduções de *C. arabica* de diferentes regiões da Etiópia.

Região	Plantas analisadas (núm)	Cafeína ¹ (%)	Desvio padrão	Amplitude de variação (%)
Gojjan	15	1.033	0.097	0.806 - 1.175
Geisha	2	1.043	—	1.002 - 1.083
Harar	3	1.043	0.255	0.825 - 1.324
Illubabor	2	1.209	—	1.093 - 1.324
Kaffa	13	1.217	0.203	0.898 - 1.595
Sidamo	1	0.960	—	—

1. Média de três repetições

entre os quais um da região de Gojjan apresentou o menor conteúdo do alcalóide nas sementes (0.806%) e um de Kaffa, o maior conteúdo (1.595%).

O Quadro 3 mostra os conteúdos de cafeína encontrados em sementes de outras introduções da Etiópia, da Índia, do Quênia e da Arabia Saudita. De modo geral, os valores encontrados para estas introduções situaram-se ao redor de 1%, não se des-

Quadro 3. Teores de cafeína em introduções de *C. arabica* em dois anos.

Introdução	Cafeína ¹		Introdução	Cafeína	
	1987 (%)	1989 (%)		1987 (%)	1989 (%)
Índia			Quênia		
C1103 Mysore	1.032	1.059	C1117 Sel N197	1.059	—
C1105 964.2/1	1.014	1.116	C1118 Mibirizi	1.161	—
C1106 BA14	1.056	—	C1119 Sel P313	1.156	—
C1107 BA27	1.159	1.146	C1120 Sel X321	1.084	1.162
C1108 BA27	1.100	1.235	C1121 Sel 11	1.051	—
C1109 BA8	1.068	—	C1123 KP 263	0.988	1.142
C1110 BA10	1.073	1.205	C1127 AC53	0.959	1.115
C1111 BA2	1.135	1.221	C1128 KP532	1.092	—
C1112 BA13	1.186	—	C1129 N39	0.932	0.901
C1115 BA3	1.135	—	C1130 H1	1.137	—
Etiópia			C1131 AC98	1.070	—
C1124 Jimma Tana	0.998	0.875	C1132 KP423	1.152	1.093
C1137 Geisha	1.143	1.231	C1134 N100	0.989	—
C1141 Amfillo	0.932	—	C1135 F502	1.090	1.228
C1142 Dalle	1.090	1.138	C1136 H66	0.967	1.030
C1149 Dalle/Dilla	1.127	1.132	C1138 I60	1.097	—
C1155 Erecta	1.085	—	C1147 SL10	0.927	1.040
C1156 Dilla & Alghe	1.131	1.271	C1148 SL30	1.030	—
			C1151 K7	1.188	1.206
			C1153 SL28	1.303	—

(Cont. de Quadro 3)

Introdução	Cafeína ¹		Introdução	Cafeína	
	1987 (%)	1989 (%)		1987 (%)	1989 (%)
C1161 Tafariakela	1.205	—	C1159 Kent	1.199	—
C1162 Mattu	1.164	1.171	C1166 N50	1.205	—
C1163 Eritrean Moca	1.148	—	C1169 N205	0.910	—
C1164 Agaro	1.067	—	C1170 KP228	1.050	—
C1167 Amfillo	1.110	—			
C1556 Kaffa	1.118	—	Arábia Saudita		
C2080 E177	1.262	1.237			
C2119 E293	1.086	—	C3376 Abha	0.933	1.198
C2180 E472	1.049	—	C3377 Bani Malik	0.963	1.190
C2186 E496	1.109	—			
C2189 E505	1.246	—			

1. Média de três repetições.

taçando entre eles nenhum cafeeiro com valor mito acima ou abaixo desta média, com exceção do exemplar C1124 Jimma Tana com teor pouco menor.

Quanto às variedades mais cultivadas de *C. arabica* e alguns híbridos entre variedades de mesma espécie (Quadro 4), os valores médios para cafeína também estiveram ao redor de 1%, exceção feita aos cafeeiros Laurina. O menor teor foi observado em um cafeeiro Bourbon Amarelo (0.804%) e o maior em um híbrido entre Mundo Novo e Laurina (1.455%). Grande variação foi observada entre os híbridos de Laurina, heterozigotos para o fator "lr" e morfologicamente semelhantes ao Mundo Novo. Tais cafeeiros vêm sendo utilizados em retrocruzamentos para o Mundo Novo.

A separação da variedade Catuaí nas suas formas frutos amarelos e vermelhos não mostrou diferenças quanto ao teor de cafeína, sendo que Catuaí Amarelo teve teor médio de 1.127%, com desvio padrão de 0.106 e Catuaí Vermelho 1.142% e 0.111 respectivamente (dados não apresentados no Quadro 4).

O Quadro 5 apresenta os resultados das dosagens de cafeína em variedades de *C. arabica*. Com poucas exceções, como obviamente a var. Laurina, as demais apresentaram valores próximos a 1.1%. Em sementes de um dos anos de coleta, a variedade Nana foi a única cujo teor de cafeína excedeu sensivelmente os outros teores encontrados, atingindo 1.4%. Variegata e San Ramon apresentaram valores superiores a 1.3%.

Diversas variedades apresentadas no Quadro 5 são geneticamente conhecidas (12). Dessa forma, os fatores nana, xantocarpa, caturra, bourbon, mokka, etc.

presentes em combinações alélicas diferentes nessas variedades, como por exemplo Nana (nana), Murta (Nana) e Bourbon (NaNa), mostram que o fator 'Laurina' quando na forma homozigota recessiva parece ser o único a ter influência marcante no teor de cafeína.

Quanto ao conteúdo de cafeína em sementes de frutos colhidos em diferentes anos, não se pode notar variações pelas quais pudesse ser afirmado que houve redução o aumento significativo de um ano para outro. As maiores alterações foram observadas nas variedades Nana, Palidoviridis e Maragogipe Amarelo. As variações ambientais (1, 7), a adubação (14) e mesmo o ataque por *Hemileia vastatrix* (18) seriam alguns dos fatores que poderiam afetar, dentro de um certo limite, o conteúdo de cafeína, porém, acredita-se que isto não acarreta alterações significativas.

DISCUSSÃO

Já no início do século o teor de cafeína no café despertava o interesse de alguns pesquisadores. D'utra (10) encontrou teores de 0.94% a 1.85% em café 'Arabica', sendo os mais altos em amostras da variedade Maragogipe. Em Bourbon a média encontrada foi de 1.38%. Na década de 30, Duarte (9) e Wilbaux (20) observaram que café 'Arabica' da Ilha de São Tomé e do Congo possuíam cafeína entre 0.70% a 1.23% e 0.94% a 1.59%, respectivamente.

Tango e Teixeira (19) encontraram variações entre 1.073% a 1.296% no conteúdo de cafeína em sementes de cafeeiros de 12 progênies da variedade Mundo Novo. Castilho e Parra (5) analisando 38 introduções

Quadro 4. Teor de cafeína em variedades e híbridos de *C. arabica*.

Variedade	Geração ¹ (núm.)	Plantas Analisadas (núm.)	Cafeína ² (%)	Desvio padrão	Amplitude de variação (%)
Bourbon Amarelo	1	18	1.057	0.146	0.804 - 1.325
Mundo Novo	1	26	1.100	0.089	0.895 - 1.271
Catuai	3	6	1.160	0.073	1.024 - 1.242
Catuai	4	36	1.126	0.104	0.946 - 1.391
Catuai	5	2	1.113	—	1.007 - 1.072
Laurina	1	6	0.614	0.044	0.542 - 0.661
Catuai Vermelho x São Bernardo	0	2	1.210	—	1.136 - 1.283
Catuai Vermelho X Erecta	1	1	1.206	—	—
Acaia X S. Bernardo	0	1	1.052	—	—
Mundo Novo X São Bernardo	0	1	1.183	—	—
Mundo Novo X Vila Lobos	1	1	1.010	—	—
Mundo Novo X Pacas	1	1	0.986	—	—
Mundo Novo X Laurina	1	49	1.025	0.127	0.825 - 1.455
Vila Sarchi X Híbrido de Timor	0	13	1.052	0.158	0.858 - 1.391
Vila Sarchi X Híbrido de Timor	2	12	1.036	0.092	0.882 - 1.148

1. Número de autofecundações

2. Média de três repetições

de *C. arabica* da Etiópia não encontraram teores inferiores a 1% de cafeína. Por outro lado, Charrier e Berthaud (8) relataram que o conteúdo de cafeína em germoplasma de *C. arabica* da Etiópia variava de 0.8% a 1.9%.

Carvalho *et al.* (3) verificaram níveis de 0.69%, 1.07%, 1.17% e 1.24% nas variedades Laurina, Catuai Vermelho, Bourbon Vermelho e Cera, respectivamente. O teor médio encontrado para 11 cafeeiros da variedade Icatu foi de 1.2% com limites de variação de 1.1% a 1.45%. Outros sete cafeeiros da variedade Catimor tiveram média de 1.08%, com limites de variação de 0.89% a 1.34%. O Híbrido de Timor, parental de Catimor, possuía 1.34% em quanto que três híbridos de *C. arabica* e *C. racemosa* apresentaram teor médio de 1.36%.

Estudos realizados por Berthaud e Berthou (2), Carvalho *et al.* (3), Charrier (7), Charrier e Berthaud (6) e Mazzafera e Magalhães (16) relataram sobre o teor de cafeína em sementes de outras espécies de café.

Os trabalhos citados acima, juntamente com os dados aqui apresentados, vêm demonstrar a variabilidade do conteúdo de cafeína em *C. arabica*, embora nenhum valor encontrado tenha sido menor do que aquele da variedade Laurina. É provável que parte dessa variabilidade relatada em diferentes trabalhos seja devido aos diferentes métodos empregados nas determinações.

Apesar de Kazi (11) ter chamado a atenção para a interferência de dimetilxantinas (teobromina e teofilina) na determinação de cafeína por espectrofotometria, Mazzafera e Magalhães (16) observaram estreita correlação entre determinações por este método e por cromatografia líquida de alto desempenho (hplc), este último um método de alta confiabilidade. Muito provavelmente, a pouca interferência observada por Mazzafera e Magalhães (16) seria devido à pequena quantidade das dimetilxantinas no grão verde de café, quando comparadas proporcionalmente a cafeína. Tal fato pode ser constatado nos dados de Kazi (11) e

Quadro 5. Teor de cafeína em variedades de *C. arabica* em dois anos.

Variedade	Cafeína		Variedade	Cafeína	
	1987 (%)	1989 (%)		1987 (%)	1989 (%)
Amarelo de Botucatu	1.184	1.273	Macrodiscus	1.104	1.100
Angustifolia	1.160	—	Maragogipe AD	0.942	0.960
Anormalis	1.193	1.164	Maragogipe Amarelo	0.821	1.198
Abramulosa 1	1.196	1.231	Maragogipe Vermelho	0.969	1.144
Abramulosa 2	1.108	1.300	Mokka "LrLr"	1.146	1.128
Absinica	1.131	1.230	Mucronata	1.044	0.961
Bourbon Amarelo	1.032	1.029	Mundo Novo Amarelo	1.096	—
Bourbon Vermelho	1.146	—	Mundo Novo Vermelho	1.179	1.092
Bourbon Vermelho Puro	1.036	1.112	Murta	1.192	1.131
Bullata	1.130	—	Nana	1.195	1.416
Caripe	1.065	1.176	Nacional (Arabica)	0.936	—
Catimor	1.092	—	Pacas	1.085	1.161
Catuai Amarelo	1.036	1.032	Palidoviridis	0.878	1.289
Catuai Vermelho	1.183	1.197	Pendula	1.211	1.159
Caturra Amarelo	1.116	1.064	Polyorthotropica	1.057	—
Caturra Vermelho	0.959	1.069	Polysperma	1.045	—
Cera	1.034	1.230	Purpurascens	1.099	0.993
Cioiccie	1.060	—	San Ramon	1.117	1.345
Erecta	0.846	—	São Bernardo	1.238	1.080
Enarea	0.956	—	Semierecta	1.063	1.034
Gláucia	1.139	1.189	Sumatra	1.136	1.059
Goiaba	1.124	0.957	Varieção	1.099	1.038
Híbrido de Timor	1.088	1.251	Variegata	1.320	1.061
Iarana	1.027	1.287	Vila Lobos	1.136	1.145
Ibaré	1.182	—	Vila Sarchi	1.101	—
Icatu Caturra	0.896	1.089	Volutifolia	1.078	—
Laurina	0.698	0.635			

1. Média de três repetições.

Mazzafera (15), tendo o primeiro ressaltado a importância dessa interferência no café descafeinado.

Do Quadro 1 deve ser observado que mesmo nos cruzamentos entre *C. arabica* com cafeeiros de outras espécies como *C. eugenoides* e *C. racemosa*, que têm teores de cafeína inferiores a *C. arabica*, 0.4% e 0.8% respectivamente (16), o nível do alcalóide foi restabelecido para 1%. Entretanto, os cafeeiros de *C. racemosa* e *C. eugenoides* utilizados nos cruzamentos tinham seu número de cromossomos duplicado, o que poderia ter afetado o teor de cafeína.

Além de se conhecer melhor a variabilidade em *C. arabica*, um dos objetivos do presente trabalho também era investigar a possibilidade de se encontrar um cafeeiro produtivo e com sementes com baixo teor de cafeína entre aqueles já melhorados para produtividade. Os extensivos dados obtidos, em conjunto com outros dados da literatura, demonstram que a possibilidade de se encontrar um cafeeiro com tal característica em *C. arabica* parece ser remota.

Face a esses resultados e aos obtidos por Mazzafera *et al.* (17), que encontraram híbridos de *C. arabica* com *C. salvatrix* (2n=44) com cafeína ao redor de 0.5%, intensificou-se tais estudos em cafeeiros oriundos de hibridações interespecíficas.

Sob o ponto de vista do melhoramento genético, a estratégia que se apresenta como promissora para a obtenção de *C. arabica* com teores mais baixos de cafeína do que a 'Laurina', parece ser a hibridação dessa variedade com aqueles híbridos interespecíficos relatos por Mazzafera *et al.* (17), ou mesmo somente entre diversos híbridos, seguidos de autofecundação e retrocruzamentos para seleções produtivas de *C. arabica*. Considerando que o teor final de cafeína nas sementes depende de vários passos metabólicos distintos (15), a recombinação de diferentes fatores poderia resultar em plantas com teores ainda menores do que o do 'Laurina'.

O aproveitamento do fator 'Laurina' no desenvolvimento de linhagens produtivas, de porte normal e

com baixo teor de cafeína depende de análises genéticas minuciosas ainda não concluídas. As aplicações dessas análises e suas implicações no melhoramento de *C. arabica* foram discutidas por Carvalho et al. (4).

LITERATURA CITADA

1. BEAUDIN-DUFOR, D.; MULLER, L.E. 1971. Effet de la radiation solaire et de l'âge en caféine et en azote des feuilles et des fruits de trois espèces de caféiers. Turrialba 21(4):387-392.
2. BERTHAUD, J.; BERTHOU, F. 1977. Analyse de la variabilité des populations naturelles des caféiers diploides (*Coffea* spp): Observations sur le teneur en caféine et sur le polymorphisme enzymatique. In Colloquium International sur la Chimie du Café (8). p. 385-391.
3. CARVALHO, A.; SONDAHL, M.R.; SLOMAN, C. 1983. Teor de cafeína em seleções de café. In Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras (10., Poços de Caldas). Resumos. p. 111-113.
4. CARVALHO, A.; FAZUOLI, L.C.; MAZZAFERA, P. 1988. Melhoramento do cafeeiro. 42. Produtividade de progênies derivadas de hibridação dos cultivares Laurina e Mundo Novo. Bragantia 47 (2):213-222.
5. CASTILHO, Z.J.; PARRA, H.J. 1973. Exploración en el contenido de cafeína, grasas y sólidos solubles en 113 "introducciones" de café. Cenicafé 24(1):3-22.
6. CHARRIER, A.; BERTHAUD, J. 1975. Variation de la teneur en caféine dans le genre *Coffea*. Café, Cacao, Thé 19(4):251-264.
7. CHARRIER, A. 1978. L'obtention et les caractéristiques des hybrides F₁ entre les Mascaro-coffeea et les Eucoffea. In La structure génétique des caféiers de la region Malgache (Mascaro-coffeea): Leurs relations avec les caféiers d'origine africaine (Eucoffea). Mémoires ORSTOM no. 87. p. 141-161.
8. CHARRIER, A.; BERTHAUD, J. 1985. Botanical classification of coffee. In Botany, biochemistry and production of beans and beverage. Westport, Conn., AVI Publishing Comp. p. 13-41.
9. DUARTE, C. 1930. Sur les teneurs en eau et en caféine des cafés de S. Tomé et du Prince. Anais do Instituto Superior de Agronomia (Portugal) 4:1-10.
10. DUTRA, G. 1902. Composição química do café. Instituto Agronômico do Estado São Paulo, Bra. Boletim Agricultura no. 1. p. 291-317. (Serie no. 3).
11. KAZI, T. 1985. Determination of caffeine and other purine alkaloids in coffee and tea products by high performance liquid chromatography. In Colloquium International sur la Chimie du Café (10.) p. 227-244.
12. KRUG, C.A.; CARVALHO, A. 1951. The genetics of *Coffea*. Advances in Genetics 4:127-158.
13. LOPES, M.H. 1971. Teor de cafeína em cafeeiros espontâneos de Moçambique. In Colloquium International sur la Chimie du Café (5). p. 63-69.
14. MAZZAFERA, P. 1990. Estudo sobre o papel da cafeína em plântulas de café (*Coffea arabica* L.). Revista Brasileira de Botânica (no prelo).
15. MAZZAFERA, P. 1990. Metabolismo de cafeína em espécies de *Coffea*. Tese Doutorado. Bra., Universidade Estadual de Campinas. 79 p.
16. MAZZAFERA, P.; MAGALHAES, A.C.N. 1990. Cafeína em folhas e sementes de espécies de *Coffea* e *Paracoffea*. Enviado para publicação em Revista Brasileira de Botânica.
17. MAZZAFERA, P.; CARVALHO, A.; FAZUOLI, L.C.; MEDINA FILHO, H.P. 1990. Caffeine content in seeds of coffee under selection at the Instituto Agronômico de Campinas. In Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo (8., Campinas). Resumos. Sao Paulo, Bra. p. 128.
18. MEDEIROS, M.A.P.X.L.; GUEDES, M.E.M.; SOUSA, M.L.B. 1990. Has caffeine a role in the resistance of coffee to the orange rust? In Colloquium International sur la Chimie du Café (13.) Résumés. p. 102.
19. TANGO, J.S.; TEIXEIRA, G.C. 1961. Teor de cafeína em progênies de café. Boletim da Superintendência do Serviço do Café (Bra.) 416:6-10.
20. WILBAUX, R. 1938. Recherches sur la préparation du café par voie humide. Serv. Techn. 21:1-45. (Public INEAC).

Feeding Value of Two Varieties of *Festuca arundinacea* (Schreb) Under Grazing Conditions¹

C.J. Escuder*, F.J. Santini*, S. Chifflet de Verde*,
S. Assuero*, A. García*

ABSTRACT

Previous economic evaluations of *Festuca arundinacea* (Schreb) varieties in Balcarce have shown that the variety Maris Kasba (MK) has greater winter growth than the variety El Palenque (P), but no data were available of their feeding value. A study was thus carried out during four periods: spring of 1982, and summer, winter and spring 1983. During these periods, measurements of faecal output of six steers and *in vitro* digestibility of the diet selected by oesophageal fistulated steers were made to estimate herbage consumption. Estimates of rate and extent of neutral detergent fiber (NDF) digestibility, using the *in situ* technique, were also made in six rumen-fistulated steers in spring 1983. Before the animals were put into plots, the herbage mass on offer in both varieties was similar in the both periods considered. There were no differences in *in vitro* digestibilities of extrusa samples in spring 1982 and 1983, nor in winter 1982. However, during summer 1982, the *in vitro* digestibility of extrusa samples was greater for animals grazing the P plots. Dry matter intake was greater for animals grazing MK pastures in spring 1982, winter 1983 and spring 1983 (P), but there were no differences in summer 1983. The higher intake of animals grazing MK plots was associated with a higher percentage of leaves in the extrusa, a lower retention time in the rumen, and a higher rate and extent of NDF digestion.

Key words: Feeding value, *Festuca arundinacea*, grazing, intake.

INTRODUCTION

Tall fescue is commonly included in cultivates pastures by farmers of the Pampa region of Argentina. It is well adapted to a wide range of soils and climate conditions, with high production and persistence. The most common variety is El Palenque (P), selected from *Festuca arundinacea* (Schreb) populations introduced from the USA. Its growth curve is characterized by a relatively greater production during spring and summer periods. Recently, other varieties of *F. arundinacea* (Schreb) selected from

COMPENDIO

Evaluaciones agronómicas de variedades de *Festuca arundinacea* realizadas en Balcarce, Arg., han demostrado que la variedad Maris Kasba (MK) tuvo un mayor crecimiento invernal que "El Palenque" (P), no existiendo datos sobre sus respectivos valores alimenticios. Por lo tanto se llevó a cabo un estudio durante cuatro períodos: primavera 1982, verano, invierno y primavera 1983. Durante estos períodos, se midió la producción fecal con seis novillos y la digestibilidad *in vitro* de la dieta seleccionada por novillos fistulados para estimar el consumo en condiciones de pastoreo. También se estimó la tasa y extensión de la digestión de la fibra con detergente neutro (NDF), con bolsitas colocadas en el rumen de seis animales con fistula ruminal, en el período de primavera 1983. No se encontraron diferencias en la dieta de forraje en las parcelas de una y otra variedad, antes de que los animales entraran a pastorear. Tampoco se encontraron diferencias en la digestibilidad *in vitro* de las extrusas de la primavera de 1982 y 1983 y en las de invierno de 1982. Sin embargo, en el verano de 1982, la digestibilidad *in vitro* fue mayor en las extrusas provenientes de las parcelas de El Palenque. El consumo de materia seca en la primavera de 1982, invierno y primavera de 1983 resultó mayor en las parcelas de MK (P), no encontrándose diferencias en el verano de 1982. El mayor consumo de los animales estuvo asociado con el mayor porcentaje de hojas en las extrusas, menor tiempo de retención en el rumen y mayor tasa y extensión de la digestión de la fibra que se observó en los animales que pastorearon las parcelas de MK.

Palabras claves: Valor nutritivo, *Festuca arundinacea*, pastoreo, consumo.

germplasm originated in northern Africa, such as "Maris kasba" (MK), have been imported. Agronomic evaluations in Balcarce showed similar or slightly lower production levels in MK than in P. However, the seasonal production was quite different, with greater growth during winter in MK. The objective of this experiment was to obtain information on the feeding value of these varieties under grazing conditions in different seasons.

MATERIALS AND METHODS

Two pastures, variety P and variety MK of *F. arundinacea* (Schreb) free of the endophytic fungus *Acremonium coenophialum* were sown at the Balcarce Experiment Station (lat. 37°45', long 58°17'E, 130 masl) in the autumn of 1981. The pastures were subdivided into four paddocks of 2500 m² each. All were used in

¹ Received for publication 25 September 1990

* Depto. Prod. Animal, EEA INTA Balcarce, C.C. 276-7620-Balcarce, Buenos Aires, Argentina

winter, while only two were used during the other seasons. One hundred kilograms per hectare of urea (46% N) was applied early in spring 1982, and autumn and spring 1983. During the periods between intake estimations, plots were continuously grazed by a variable number of steers to maintain herbage mass. Before intake estimations, twenty 0.25 m² samples of each variety were cut with hand shears to a height of approximately 3 cm from ground level to estimate total and green pasture herbage mass. Six of these samples during the first three periods and eight in spring 1982 were chosen and separated into live leaf, stem and dead components.

These components were dried at 60°C and weighed. Diet samples were obtained for each variety in spring 1982 by collecting ingested material from six oesophageal-fistulated Hereford steers, approximately 24 months old and weighing 370 kg. A new group of five oesophageal fistulated steers, approximately 15 months old and weighing 200 kg, were used in spring 1983. Two extrusa samples were taken: morning (09:00 h) and evening (15:00 h) from animals during two days on each plot in a change-over design. Fistulated animals were introduced to the paddocks 30 h prior to the beginning of sampling. Morning and evening collections were bulked and subdivided in spring 1982, summer and winter 1983, but were processed individually in spring 1983 to measure dry matter digestibility according to Tilley and Terry and to carry out botanical analysis.

Accordingly, this procedure yielded 12 samples, six for each variety in spring 1982, summer and winter 1983, and 20 samples in spring 1983. Intake was calculated by combining values of total faeces output collected with mean dry matter digestibility estimated from the extrusa samples. Faeces were collected for six days from six Hereford steers per plot. The steers were 24 months old, weighing approximately 340 kg in spring 1982, and six Fresian steers per plot of about 15 months old, weighing approximately 220, 243 and 283 kg in summer, winter and spring 1983, respectively. Total fresh faeces weight output was measured twice daily with harnessed animals. Aliquot portions (5%) were taken and kept at -10°C. At the end of the collection period, aliquot portions of the fresh faeces of each steer were dried at 60°C for dry matter determination. On two occasions during the spring of 1983, estimation of rate of passage of undigested residues, and of rate and extent of neutral detergent fiber (NDF) disappearance of fresh forage (in sacco) from the rumen were made in similar adjacent plots using six rumen-fistulated grazing steers with a mean liveweight of 395 kg, using a change-over design.

Each period lasted for 13 days (eight days of pre-treatment and five days for data collection). The estimation of rate of passage was done out using mordanted chromium as described by Uden *et al.* (14). Administration of the marker meals was carried out at 08:00 h via fistula. Grab faecal samples were taken at 0, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 95 and 120 h after dosing with the markers. Animals were removed from the pasture and samples taken with the help of a chute gate; the time consumed for this operation was about 15 minutes. The forage ruminal turnover rates, total mean retention time and transit time were calculated by fitting a two-compartment model to the faecal excretion data using the procedure of Grovum and Williams (3). Fiber digestion kinetics were estimated using the *in situ* technique described by Mehrez and Orskov (7). Nylon bags measuring 7 cm x 16 cm with average pore size of 10 µm x 15 µm were used. Fifteen grams of the fresh forage ground with a meat mincer were weighed into the bags which were closed and tied with braided nylon fishing line. Two bags were removed from the rumen at 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 60 and 72 h after introduction into the rumen.

After removal, bags were immediately rinsed with tap water to remove ruminal materials from the outside of the bag. This was followed by successive washings, first with tap water, then with distilled water, until water squeezed from the bags was clear. The bags were then dried at 60°C and weighed. The model for kinetics of fiber digestion was a simple first order kinetic equation (11) with the addition of a discrete lag time as described by Martens and Loftén. The different variables were compared using a one-way classification analysis of variance for each season. Different fractions of the sward were compared using one-way analysis of variance with subsamples. Leaf and stem percentages in the sward were compared considering samples of plots as replicates.

Dry matter digestibility and leaf percentage in extrusa were analyzed using a complete block (animals) design. Animal digestion variables were analyzed in a cross design in which variability due to variety, period and animal were isolated. Regression analyses was used to evaluate the relationship between dry matter intake and leaf percentage in extrusa and in the sward.

RESULTS

Estimates of herbage mass are given in Table 1. No significant differences in total amount of dry matter or amounts of green herbage dry matter were detected between varieties, except for the amounts of green herbage dry matter in spring 1982 (P). A significantly higher proportion (P) of leaf was detected in MK than in P swards, except in summer of 1983 (Table 2).

Table 1. Herbage masses (kg/DM/ha) at the start of each period.

Period		MK	P	s.e.mean
Spring 1982	green	2 636	3 344	217.4*
	dead	454	376	49.0
	weeds	402	119	38.7**
	Total	3 492	3 839	244.5
Summer 1983	green	1 034	1 245	131.9
	dead	1 295	1 478	151.4
	weeds	284	184	41.0
	Total	2 613	2 907	273.5
Winter 1983	green	351	174	84.1
	dead	460	470	111.8
	weeds	28	33	6.1
	Total	839	677	192.3
Spring 1983	green	823	1 181	140.8
	dead	51	61	19.5
	weeds	71	85	13.9
	Total	964	1 327	152.9

* (P<0.5)

** (P<0.01)

Table 2. Proportion of the different components of the Maris kasba and El Palenque swards.

Period	Green material						Dead material			Weeds		
	MK	Leaf P	s.e.mean	MK	Stem P	s.e.mean	MK	P	s.e.mean	MK	P	s.e.mean
1982												
Spring	62.0	48.8*	1.4	9.3	34.4*	1.4	12.1	9.9	0.8	12.9	3.3*	1.3
1983												
Summer	31.4	34.2	2.0	6.5	4.6	1.0	47.6	50.7	0.9	14.4	7.3	1.9
Winter	44.2	21.9*	1.7	8.9	7.1	1.4	49.6	69.1*	1.5	6.5	6.2	1.7
Spring	76.9	47.1*	1.6	5.7	38.5*	1.0	3.6	4.8	1.1	9.6	8.7	1.8

1 s.e.mean of transformed arcsin values, *P<0.05.

During spring 1982, stem and weed percentages were higher (P) in P swards. In winter, the proportion of dead material was significantly lower (P) in MK pastures. Greater proportions of leaf were generally

found in the extrusa of animals grazing the MK variety (Table 3), although the results were significant only in spring 1982, and winter 1983 (P). No significant differences were detected in dry matter digestibility of the

Table 3. Leaf percentage, *in vitro* dry matter digestibility of extrusas and intake of dry matter.

Period	Leaf (%)			Digestibility (%)			Intake, g/kg live weight/day		
	MK	P	s.e.mean	MK	P	s.e.mean	MK	P	s.e.mean
1982									
Spring	83.3	63.8	3.8 *	69.0	69.7	1.9 NS	28.6	21.5	1.05 **
1983									
Summer	78.3	76.4	3.4 NS	49.6	54.0	1.0 *	26.1	27.0	0.95 NS
Winter	81.3	58.6	5.7 *	56.7	53.8	2.0 NS	21.0	18.0	0.47 **
Spring	81.7	69.0	4.5 NS	66.9	67.4	0.5 NS	24.8	20.1	1.32 *

* (P < 0.05)

** (P < 0.01)

extrusa of animals grazing both types of pasture, except during summer 1983 (Table 3), when higher digestibility of the extrusa was obtained in P pastures. Dry matter intake estimates were 33%, 17% and 23% higher for the MK than the P swards during spring 1982, and winter and spring 1983, respectively but no significant differences were found during summer 1983.

No significant relationship could be established between the mean percentage of leaves in the total herbage mass or in the green fraction, and the dry matter intake of steers. However, a significant relationship was found between the percentage of leaves in the extrusa and dry matter intake, as is shown in Fig. 1.

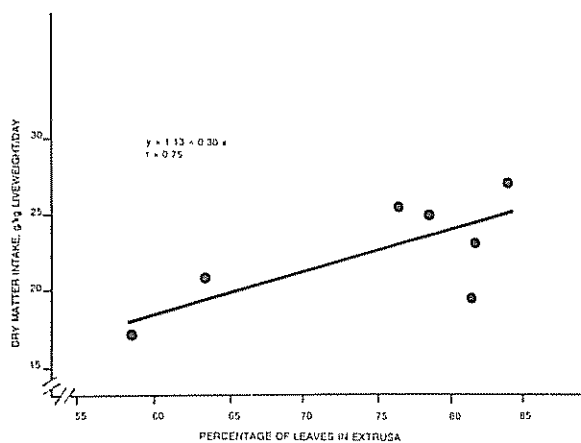


Fig. 1. Relationship between the percent of leaves of *Festuca arundinacea* in extrusa and dry matter intake of steers.

The correlation between the mean percentage of leaves in herbage mass and percentage of leaves in extrusa was no significant, but the proportion of leaves

Table 4. Component turnover rate, transit time and rate and extent of NDF degradation.

	MK	P	s.e.mean
K ₁ (%/h)	4.34	3.55	0.47*
k ₂ (%/h)	9.34	8.05	0.78*
T.T. (h)	10.00	9.83	0.64*
TMRT (h)	45.95	48.23	3.98*
Fiber degradation rate (%/h)	3.80	2.60	0.31*
Extent of NDF digestion (%)	51.2	46.70	4.32*

k₁ = ruminal turnover rate

k₂ = hindgut turnover rate.

T.T. = time of first appearance of marker in feces.

TMRT = total mean retention time

* (P < 0.05)

in the extrusa were always higher than in the herbage (Tables 2, 3). Digestion parameters for both varieties are shown in Table 4. Higher turnover rate, and rate and extent of digestion, and lower transit and total mean retention times were observed in animals grazing MK plots.

DISCUSSION

This trial was planned to compare two varieties in different seasons and over a wide range of herbage mass and digestibilities. The results showed that, in spring 1982 and winter and spring 1983, the intake of animals grazing MK plots was greater than those on P. It is important to note that, due to the management system applied, the animals were never forced to graze. In

winter, when pasture availability was lower, supplementary paddocks were used. Under these conditions, it is reasonable to find no relationship with herbage mass (5) nor differences in digestibility between pasture, as found by Hodgson *et al.* (3) and Poppi *et al.* (4, 11). Alternatively, differences in intake might have been due to differences in ingestive behavior related to sward structures (4, 12).

However, Cangiano *et al.* (1) did not find any significant difference in bite size in steers grazing both types of swards (varieties). Rather, the results presented show that the higher intake of forage dry matter in animals grazing MK plots was associated significantly with a higher proportion of leaves in extrusa, or diet with a lower mean retention time and higher fiber degradation rate and extent of NDF digestion. These results are in agreement with those of Minson (9), who showed that the intake of leaves by cattle and sheep were higher than stems, due to the smaller size of leaf particles in the rumen, which produced a lower retention time and a faster digestion rate than the stem particles. Accordingly, it is concluded that the higher intake of animals grazing MK plots was related with the higher intake of leaves. In addition, it seems that higher liveweight gains could be obtained on MK pastures during winter and spring. On the other hand, higher animal performance on P pastures can be expected in summer. Consequently, the use of either pasture variety by farmers will depend on their particular needs in each situation.

LITERATURE CITED

- 1 CANGIANO, C.A.; AROSIEGUY, C.J.; LORENZO, M.S.; MAZZANTI, A.E. 1986. Comportamiento ingestivo de novillos pastoreando dos cultivares de *Festuca arundinacea* Schreb y su relación con la estructura del canopeo. *Revista Argentina de Producción Animal* 6:159-163
- 2 GROVUN, W.L.; WILLIAMS, V.J. 1973. Rate of passage of digesta in sheep. IV. Passage of marker through the alimentary tract and biological relevance of the rate-constants derived from the changes in concentration of marker in faeces. *British Journal of Nutrition* 30:313-329.
- 3 HODGSON, J.; RODRIGUEZ-CAPRILES, J.M.; FENLON, J.S. 1977. The influence of sward characteristics on the herbage intake of grazing calves. *Journal of Agricultural Science* 89:743-750
- 4 HODGSON, J. 1982. Influence of sward characteristics on diet selection and herbage intake by the grazing animal. In *Nutritional limits to animal production from pastures* J.B. Harker (Ed.) Commonwealth Agricultural Bureaux p. 153-166.
- 5 MANNETJE, L.; EBERSHON, J.P. 1980. Relations between sward characteristics and animal production. *Tropical Grassland* 14:273-280.
- 6 MAZZANTI, A.E.; AROSIEGUY, J.C. 1985. Comparación de rendimiento estacional de forraje de cultivares de *Festuca arundinacea* Schreb. *Revista Argentina de Producción Animal* 5:157-165.
- 7 MEHREZ, A.Z.; ORSKOV, E.R. 1977. A study of the artificial fiber bag technique for the determining the digestibility of feeds in the rumen. *Journal of Agricultural Science* 88:645-650
- 8 MARTENS, D.R.; LOFTEN, J.R. 1980. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics *in vitro*. *Journal of Dairy Science* 63:1437-1446
- 9 MINSON, D.J. 1982. Effect of chemical and physical composition of herbage eaten upon intake. In *Nutritional limits to animal production from pastures*. J.B. Harker (Ed.) Commonwealth Agricultural Bureaux. p. 167-182
- 10 POPPI, D.P.; HUGHES, I.P.; L'HUILIER, P.J. 1987. Intake of pasture by grazing ruminants. In *Livestock feeding on pasture*. New Zealand Society of Animal Production Occasional Publication no. 10. p. 65-75.
- 11 SMITH, L.W.; GOERING, H.K.; WALDO, D.R.; GORDON, C.H. 1971. *In vitro* digestion rate on forage cell-wall components. *Journal Dairy Science* 54:71-78
- 12 STOBBS, I.H. 1973. The effect of plant structure on the intake of tropical pastures. II. Differences in sward structure, nutritive value and bite size of animals grazing *Setaria anceps* and *Chloris gayana* at various stages of growth. *Australian Journal of Agricultural Research* 24:821-829
- 13 TILLEY, J.M.A.; TERRY, J. 1963. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society* 18:104-111.
- 14 UDEN, P.; COLUCCI, P.; VAN SOEST, P. 1980. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta rate of passage studies. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 31:625-634.

Influencia del Tamaño de Explante en la Propagación *in vitro* de Cuatro Cultivares de *Musa*¹

J.A. Sandoval*, L.E. Müller*

ABSTRACT

The research was carried out using four sizes of explants, with an initial length of 1, 2, 5 and 10 mm and an average fresh weight of 3, 9, 15 and 60 mg respectively. As explant, the apical bud of the corm was used. The influence of the size of the explant on increase in longitudinal growth and fresh weight was evaluated, as well as the degree of phenolic oxidation and percentage of survival. The most appropriate length for culture initiation was found to be 5 mm. Observations revealed that larger explants had a lower rate of survival and stronger phenolic oxidation.

COMPENDIO

Se investigaron cuatro explantes de 1 mm, 2 mm, 5 mm y 10 mm de longitud, con un peso inicial promedio de 3 mg, 9 mg, 15 mg y 60 mg, respectivamente. La parte de la planta utilizada como explante fue la yema apical del cormo. Se relacionó el tamaño del explante con el crecimiento longitudinal, aumento de peso fresco, grado de oxidación fenólica y porcentaje de supervivencia. Se encontró que el tamaño de ápice más apropiado para el cultivo fue la dimensión longitudinal correspondiente a 5 milímetros. Además, con un tamaño mayor del explante, el porcentaje de supervivencia fue menor y el incremento de la oxidación fenólica mayor.

Palabras claves: *Musa*, micropropagación, tamaño de explante.

INTRODUCCION

El banano (*Musa* AAA) y el plátano (*Musa* AAB) son frutos de gran aceptación en mercados internacionales y constituyen también una fuente alimenticia muy importante en los países tropicales. Su exportación contribuye a la captación de divisas y a la generación de empleo

La propagación comercial de los tipos comestibles es asexual, ya que no producen semillas y si las poseen generalmente no son viables. Los hijuelos del cormo madre son separados para utilizarlos como propágulos. Sin embargo, la tasa de multiplicación es baja cuando se utilizan métodos de propagación convencional. Se han realizado varios intentos para aumentar la tasa de multiplicación (2, 10, 20). Actualmente, la atención está centrada en las ventajas del uso de la micropropagación *in vitro*, por medio del cultivo de

tejidos (9, 14, 18, 24, 26). En esta técnica, la parte de la planta utilizada para iniciar un cultivo es lo que se conoce como explante, el cual debe poseer un tamaño inicial óptimo (11). Durzan (6) menciona que la viabilidad del explante y el potencial de organogénesis se conocen en muchas especies, pero no en todas. Así, el crecimiento de un explante puede presentar diferentes comportamientos del de otra especie, inclusive de otro clon de la misma especie. El mismo autor señala que para lograr el éxito en un cultivo se deben considerar los siguientes factores: fuente del inóculo, tamaño y patrón de crecimiento de la planta madre, edad del explante además de la posición del explante en el medio de cultivo, microambiente y totipotencia de las células.

Hu y Wang (11) indicaron que la presencia de primordios foliares determina la capacidad de desarrollo del explante. El lento crecimiento de explantes constituidos únicamente por el domo apical (meristema) sugiere una dependencia de la regulación hormonal exacta. Según Kassanis y Varma (17), los meristemas de papa (*Solanum* sp.) de 0.1 mm con un primordio foliar muestran un mejor crecimiento que cuando se cultivó el meristema sin presencia del primordio. Kartha y Gamborg (16) cultivaron meristemas de yuca (*Manihot* sp.) y encontraron que cuando la dimensión del explante era mayor que 0.2 mm, se lograba la diferenciación de una planta completa. Con tamaños

1 Recibido para publicación el 20 de marzo de 1990. Los autores agradecen a la Agencia Internacional para el Desarrollo (AID) de los Estados Unidos de América, por su ayuda a la investigación mediante el Grant 936-5542, *Innovative Scientific Research*.

* Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, C R

inferiores a 0.2 mm, la respuesta consistió únicamente en la formación de callo o rizogénesis.

Caplin (3) señaló que explantes grandes pueden producir más cantidad de tejido nuevo en un tiempo determinado, debido a que el contenido de reservas es mayor que el encontrado en un explante pequeño. Para el caso específico de *Musa*, Jarret, Rodríguez y Fernández (13) utilizaron ápices con una dimensión de aproximadamente de 2 mm a 3 mm de diámetro y obtuvieron resultados satisfactorios. Estos autores informaron que a las cuatro semanas de permanencia en el medio de iniciación, los explantes incrementaron su tamaño de tres a cinco veces en relación con el tamaño inicial.

De Guzmán, Decena y Ubalde (5) investigaron en *Musa* la obtención de mutantes por medio de la irradiación de tejidos *in vitro*. Emplearon diversos tipos de explante y para el cultivo de ápices usaron un tamaño igual a cinco milímetros. Banerjee y De Langhe (1), al iniciar el cultivo de material que posteriormente fue conservado *in vitro* en condiciones de temperatura relativamente baja, usaron un tamaño de explante de 2 mm a 3 mm de largo con dos a tres primordios foliares aproximadamente.

Ma y Shii (19) lograron en banano una rápida multiplicación clonal al cultivar ápices vegetativos de 5 mm de longitud por 3 mm de diámetro.

Vuylsteke y De Langhe (25) utilizaron ápices de 1 mm a 2 mm, e informaron que tales tamaños poseen uno a tres primordios foliares. Novak *et al.* (22) cultivaron ápices con diámetro basal de 2 mm a 3 mm, con uno a cuatro primordios foliares aproximadamente.

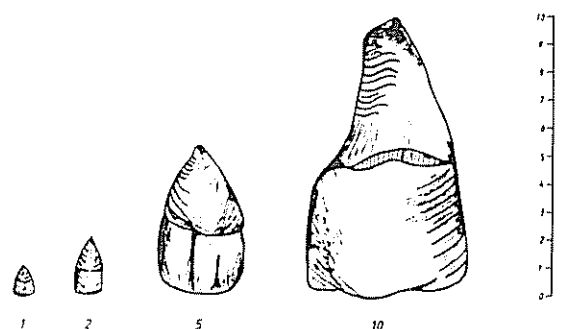
Es evidente que el tamaño del explante es uno de los factores que determina el éxito de la micropropagación. En *Musa*, la falta de una investigación detallada y concordante ha motivado la realización del presente trabajo, con el objetivo de determinar el tamaño de explante (ápice vegetativo) más adecuado para su propagación *in vitro*.

MATERIALES Y METODOS

Cormos de Curraré (AAB), Dominico (AAB), Valery (AAA) y Gran Enano (AAA) se extrajeron de plantas cultivadas en campo. Se eliminaron las partes externas del cormo y vainas foliares hasta obtener secciones de aproximadamente 5 cm de largo y diámetro, que contenían el ápice vegetativo. Este material fue sometido a una primera desinfección con hipoclorito de sodio (blanqueador comercial Ajax Cloro) sin diluir, durante 20 min, seguido por dos

lavados de cinco minutos cada uno con H₂O estéril. En condiciones asépticas, se redujo el tamaño del material aún más hasta 2 cm aproximadamente. Este explante consistió en una parte del cormo y varias vainas foliares envolventes del meristema.

Seguidamente, se realizó una segunda desinfección por espacio de 10 min con hipoclorito de sodio (blanqueador Ajax Cloro) al 10% (v/v) más dos gotas de Tween 20 por cada 100 ml de solución desinfectante. Se practicaron dos lavados de 3 min cada uno con agua destilada esterilizada y se procedió en condiciones estériles a reducir el tamaño de los ápices hasta el requerido para el experimento. Estos tamaños fueron de 1 mm, 2 mm, 5 mm y 10 mm de longitud, y se varió el diámetro de la base de acuerdo con la longitud. El peso inicial promedio fue de 3 mg, 9 mg, 15 mg y 60 mg, respectivamente (Fig 1). Para cada cultivar y tamaño se usaron 20 repeticiones.



Leyenda:

1 = longitud 1 mm y peso 3 mg; 2 = longitud 2 mm y peso 9 mg; 5 = longitud 5 mm y peso 15 mg; 10 = longitud 10 mm y peso 60 miligramos.

Fig 1 Representación esquemática de las medidas iniciales de los explantes de *Musa*

Antes de su inoculación, los explantes fueron sometidos a un tratamiento antioxidante mediante la permanencia, durante 10 min, en una solución acuosa estéril de cisteína-HCl (50 mg l⁻¹).

Los explantes se cultivaron en el medio inorgánico de Murashige y Skoog (21) suplementado con: sacarosa, 30 g l⁻¹; mio-inositol, 100 g l⁻¹; ácido nicotínico, 0.5 mg l⁻¹; piridoxina-HCl, 0.5 mg l⁻¹; 6-bencilaminopurina (BA), 1 mg l⁻¹; y Bacto Agar (Difco), 7 g l⁻¹. El pH del medio se ajustó a 5.7 con NaOH 0.1 N antes de colocar alícuotas de 10 ml en tubos de vidrio de 11 cm x 2.5 centímetros. La esterilización se realizó en autoclave a una presión de 1.05 kg/cm² durante 15 minutos.

Los cultivos se incubaron a $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y 70% de humedad relativa, bajo un fotoperíodo de 16/8 horas. Como fuente de luz sirvieron lámparas fluorescentes del tipo "luz de día", que emitían una iluminancia de 2.500 *lux* al nivel de los cultivos. El período de incubación fue de dos meses, durante los cuales se realizaron cuatro lecturas de crecimiento longitudinal con regla milimétrica, a intervalos de 15 d cada una. Además se relacionó el tamaño del explante con la tasa (%) de supervivencia y se estimó visualmente con escala relativa el grado de oxidación de los explantes. Para determinar la razón del aumento en peso en relación con el peso fresco inicial, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Tasa de crecimiento relativo} = \frac{\text{peso fresco final} - \text{peso fresco inicial}}{\text{peso fresco inicial}}$$

Las determinaciones de peso se realizaron en una balanza electrónica (Mettler PE 360) en condiciones asépticas. Los datos fueron sometidos al análisis de variancia.

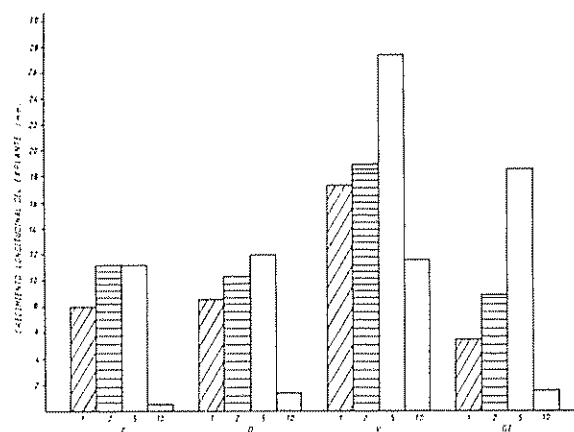
RESULTADOS Y DISCUSION

Los aumentos de tamaño aparecen en la Fig. 2 para cada dimensión de explante inicial y para cada cultivar investigado.

Se observa una correlación positiva entre el crecimiento del explante y el tamaño inicial, a excepción del correspondiente a 10 mm, en el cual el crecimiento longitudinal fue muy bajo. En este tamaño, los explantes mostraron más bien un aumento de grosor desproporcionado en la parte basal, y en la mayoría de los casos no se observó crecimiento apical pronunciado. La mayor respuesta en cuanto a crecimiento se dio con el tamaño de 5 mm para los cuatro cultivares analizados, y se obtuvo luego una diferenciación de plántulas completas.

Los tamaños de 1 mm y 2 mm mostraron un rápido crecimiento inicial hasta cumplir tres semanas. Sin embargo, posteriormente no crecieron más, ni en sentido longitudinal ni radial. Cabe destacar que aunque el ápice presentaba un buen aspecto, no se logró la formación de plántulas completas con tamaños de explante menores que dos milímetros.

Los cultivares Curraré (AAB) y Dominico (AAB) presentaron un porte de crecimiento muy similar, y los cultivares Valery (AAA) y Gran Enano (AAA) difirieron. Además es evidente que el crecimiento lon-



Leyenda:

1, 2, 5, 10 = tamaño inicial de los explantes en milímetros.

Fig. 2 Crecimiento longitudinal de los explantes de *Musa* a los 60 d de cultivo para los cultivares Curraré (C), Dominico (D), Valery (V) y Gran Enano (GE).

gitudinal fue mayor en los bananos (AAA) que en los plátanos (AAB) para la dimensión inicial correspondiente a 5 mm (Fig. 2).

Las relaciones de aumento de peso se muestran en el Cuadro 1. Existe una estrecha relación entre aumento de peso y crecimiento en longitud (Cuadro 1 y Fig. 2). La ganancia de peso tendió a disminuir conforme se incrementaba el peso fresco inicial del explante. Resultados similares fueron informados por Gadgil y Das (7) al trabajar con *Althaea rosea*. En el Cuadro 1 se evidencia que los tamaños más pequeños lograron una proporción de masa similar. Se observa también una clara supremacía de ganancia de peso para el tamaño de 5 milímetros. El tamaño de 10 mm aumentó considerablemente su masa; sin embargo, longitudinalmente, creció muy poco (Cuadro 1 y Fig. 2).

En el cultivo *in vitro* de *Musa* es frecuente la aparición de coloraciones oscuras en el medio de cultivo. Tales tonalidades se deben a la presencia de sustancias fenólicas y polifenólicas en el explante que se difunden hacia el medio, especialmente si se cultivan secciones de frutos o ápices (5). Los productos de oxidación de estas sustancias generalmente inhiben el crecimiento y con frecuencia son responsables de la muerte de los explantes. Los resultados en cuanto a la severidad de la oxidación de estas sustancias fenólicas en los diversos tamaños de explante se indican en el Cuadro 2.

En este experimento se observó un incremento en la intensidad de oxidación fenólica del explante a medida

Cuadro 1. Promedio de peso inicial, final y aumento de peso a los 60 días de cultivo para cada tamaño de explante y tasa de crecimiento relativo.

Cultivar	Tamaño inicio del explante (mm)	Peso inicial (mg)	Peso final (mg)	Aumento de peso (mg)	Tasa de crecimiento relativo
Curraré	1	3	32	29	9.7
	2	9	56	47	5.2
	5	14	133	119	8.6
	10	62	159	97	1.6
Dominico	1	3	30	27	9.0
	2	9	55	46	5.1
	5	15	125	110	7.3
	10	60	152	92	1.5
Valery	1	3	49	46	15.3
	2	8	105	97	12.1
	5	15	127	112	7.5
	10	60	145	85	1.4
Gran Enano	1	3	33	30	10.0
	2	10	99	89	8.9
	5	15	125	110	7.3
	10	61	160	99	1.6

Cuadro 2. Grado de oxidación fenólica relacionada con el tamaño del explante, a los 60 días de cultivo.

Tamaño explante (mm)	Curraré	Dominico	Valery	Gran Enano
1	1	1	2	2
2	2	1	2	2
5	2	2	2	2
10	3	3	3	3

Notas:

- 1 Sin oxidación.
- 2 Oxidación leve.
- 3 Oxidación fuerte.

que aumentó su tamaño. Fue evidente en el medio gelificado la aparición de tonalidades café, casi negras, como consecuencia de la difusión de estas sustancias. Al trabajar con explantes relativamente grandes, se está manipulando un volumen mayor que, al ser inoculado, presenta más cantidad de compuestos en oxidar. Se determinó que el grado de oxidación fue mayor para los genotipos Valery y Gran Enano (AAA) en comparación con los plátanos Curraré y Dominico (AAB). Esto concuerda con lo indicado por Simmonds (23), quien manifestó que frecuentemente la oxidación fenólica es más intensa en los cultivares con genoma AAA que en los de genoma AAB y ABB.

Varios autores (8, 12, 15) informaron que el tamaño del explante determina la supervivencia, crecimiento y tasa de multiplicación de los cultivos. En el Cuadro 3 se cuantifica la tasa de supervivencia *versus* pérdidas por contaminación, relacionadas con el tamaño del explante. Se nota que los tamaños de 1 mm, 2 mm y 5 mm presentaron poca contaminación. La tasa más baja de supervivencia se presentó en el tamaño de 10 milímetros. Estos resultados difieren de los obtenidos por Dale (4), quien al cultivar ápices de varias gramíneas, encontró una correlación positiva entre el tamaño del ápice y el porcentaje de supervivencia.

Este autor concluyó que a mayor tamaño del ápice es menor la posibilidad de mortalidad. Sin embargo,

Cuadro 3. Porcentaje de supervivencia de los explantes con respecto a la pérdida por contaminación.

Cultivar	Tamaño del explante (mm)			
	1	2	5	10
Valery	90	65	70	55
Gran Enano	95	85	100	40
Curraré	95	100	80	70
Dominico	100	100	100	90
Promedio	95	88	88	64

según George y Sherrington (8), explantes grandes pueden presentar problemas de desinfección y tornarse menos manipulables. En los casos en que se observó contaminación, la causa fue la presencia de bacterias que luego indujeron una putrefacción acuosa de los explantes, lo cual provocó que el medio de cultivo se tornara amarillento y que después ocurriera la muerte de los explantes.

CONCLUSIONES

Basados en las condiciones de la presente investigación, y de acuerdo en los resultados obtenidos, se puede concluir lo siguiente:

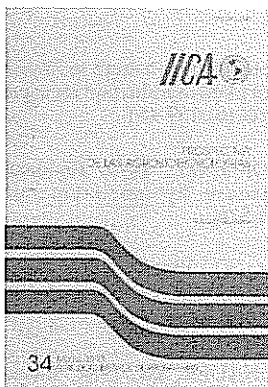
- El tamaño de ápice más apropiado para el cultivo *in vitro* en los cuatro cultivares estudiados fue el correspondiente a 5 milímetros.
- Hubo una tendencia a una menor probabilidad de supervivencia del material conforme aumentó el tamaño del explante.
- Al utilizar tamaños de explantes pequeños (mm), se minimiza el problema de la desinfección y contaminación del medio con productos de oxidación del material; sin embargo, después de que el explante adquiere cierto desarrollo, detiene su crecimiento sin diferenciarse en la planta.

LITERATURA CITADA

1. BANERJEE, N.; DE LANGHE, E. 1985. A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of *Musa* (banana and plantain). *Plant Cell Reports* 4:351-354.
2. BARKER, W.G. 1959. A system of maximum multiplication of the banana plant. *Tropical Agriculture* 36(4):275-284.
3. CAPLIN, S.M. 1963. Effect of initial size on growth of plant tissue cultures. *American Journal of Botany* 50(1):41-94.
4. DALE, P.J. 1977. Meristem tip culture in *Lolium*, *Festuca*, *Phleum*, and *Dactylis*. *Plant Science Letter* 9:333-338.
5. DE GUZMAN, E.; DECENA, A.; UBALDE, E. 1980. Plantlet regeneration from unirradiated and irradiated banana shoot tip tissues cultured *in vitro*. *Philippine Agriculturist* 63(2):140-146.
6. DURZAN, D.J. 1984. Special problems: Adult vs juvenile explants. In *Handbook of Plant Cell Culture: Crop Species*. W.R. Sharp, D.A. Evans, P.V. Ammirato, Y. Yamada (Eds.) New York, MacMillan Publ. 644 p.
7. GADGIL, F.E.; DAS, D.R. 1963. Variability in tissue growth as a function of explant weight. In *Plant Tissue and Organ Culture, a Symposium*. The University of Delhi. p. 136-143.
8. GEORGE, F.E.; SHERRINGTON, D.P. 1984. Plant propagation by tissue culture: Handbook and directory of commercial laboratories. Inglaterra, Exegetics. p. 177.
9. GUPTA, P. 1986. Eradication of mosaic disease and rapid clonal multiplication of bananas and plantains through meristem tip culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 6:33-39.
10. HAMILTON, K.S. 1965. Reproduction of banana from adventitious buds. *Tropical Agriculture* 42(1):69-73.
11. HU, C.; WANG, P.J. 1983. Meristem, shoot tip, and bud cultures. In *Handbook of Plant Cell Culture: Techniques for Propagation and Breeding*. D.A. Evans, W.R. Sharp, P.V. Ammirato, Y. Yamada (Eds.) New York, MacMillan Publ. p. 201.
12. HUSEEY, G. 1980. *In vitro* propagation. In *Tissue Culture Methods for Plant Pathologists*. D.S. Ingram, J.P. Helgeson (Eds.) Cambridge, Scientific Publ. p. 51-61.
13. JARRET, L.R.; RODRIGUEZ, W.; FERNANDEZ, R. 1985. Evaluation, tissue culture propagation and dissemination of "Saba" and "Pelipita" plantains in Costa Rica. *Scientia Horticulturae* 25:137-147.
14. JARRET, L.R.; RODRIGUEZ, W.; FERNANDEZ, R. 1986. *In vitro* propagation and genetic conservation of bananas and plantains. In *IBPGR Advisory Committee on In Vitro Storage: Report of the Third Meeting (Appendix)*. Roma, International Board for Plant Genetic Resources. p. 15-33.
15. KAHN, P.R. 1976. Aseptic plantlet culture to improve the phytosanitary aspects of plant introduction for asparagus. *Plant Disease Reporter* 60(6):459-461.
16. KARTHA, K.K.; GAMBORG, O.L. 1975. Elimination of cassava mosaic disease by meristem culture. *Phytopathology* 65:826-828.
17. KASSANIS, B.; VARMA, A. 1967. The production of virus-free clones of some British potato varieties. *Annals of Applied Biology* 59:447-450.
18. KRICKORIAN, A.D.; CRONAUER, S.S. 1984. Banana. In *Handbook of Plant Cell Culture: Crop Species*. W.R. Sharp, D.A. Evans, P.V. Ammirato, Y. Yamada (Eds.) New York, MacMillan Publ. p. 327-348.
19. MA, S.S.; SHIH, C.T. 1972. *In vitro* formation of adventitious buds in banana shoot apex following decapitation. *China Horticulture* 18 (3):135-142.
20. MOLINA, M. s.f. Sistema de propagación rápida de banano (*Musa AAA*). *ASBANA (Costa Rica)* 2(28):12-15.
21. MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-497.
22. NOVAK, F.; AFZA, R.; PHADVIBULYA, V.; HERMELIN, I.; BRUNNER, H.; DONINI, B. 1985. Micropropagation and radiation sensitivity in shoot tip cultures of banana and plantain. In *International Symposium on*

- Nuclear Techniques and in vitro Culture for Plant Improvement. Proceedings. Viena, IAEA-FAO. p. 167-174.
23. SIMMONDS, N.W. 1966. Los plátanos. 2 ed. Barcelona, Blume. 539 p.
24. VESSEY, J.C.; RIVERA J.S. 1981. Meristem culture of bananas. Turrialba (C.R.) 31(2):162-163.
25. VUYLSTEKE, D.; DE LANGHE, E. 1985. Feasibility of in vitro propagation of bananas and plantains. Tropical Agriculture 62(4):323-328.
26. WONG, W.C. 1986. In vitro propagation of banana (*Musa* spp.): Initiation, proliferation and development of shoot-tip cultures on defined media. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 6:159-166.

LIBRO RECOMENDADO



Prospectiva de las Agrobiotecnologías. No. 34. Rodolfo Quintero. Programa II. 164 p. Serie Documentos de Programas (ISSN 1011-7741).

Consciente de la importancia de la biotecnología, el IICA ha desarrollado una serie de actividades de apoyo a los países miembros, tendientes a la formulación de políticas apropiadas para la difusión y la generación de agrobiotecnologías. En este contexto se ubica esta publicación, producto de una consultoría realizada por el Dr. Rodolfo Quintero, con el apoyo de ACIDI.

US\$5.00

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

Caracterización de Variedades de Arroz ante Virus de Hoja Blanca¹

F. Cuevas Pérez*, L.E. Berrio*,
G. Lema** M. Rubiano**

ABSTRACT

With the objective of characterizing the reaction of Latin American rice (*Oryza sativa* L.) varieties to the "hoja blanca" virus, one greenhouse and three replicated field experiments were established in Palmira, Col., during 1987-1988. Plants of 12-15 days were exposed to a colony of the insect *Sogatodes oryzicola* (Muir) with approximately 90% active vectors during 3 days in the greenhouse and 10 days in the field. The percentage of diseased plants was estimated twice in the greenhouse (10 and 20 days after the inoculation period) and once in the field (10 days). Control varieties Bluebonnet 50 (Bbt 50), Cica 8, Metica 1, Oryzica 1, and Colombia 1 were classified as Susceptible (S), Moderately Susceptible (MS), Moderately Resistant (MR), and Resistant (R), respectively. "Cica 8" was classified as S when planted at random within the field experiments. Both between and within experiments, correlations were low and sometimes non-significant, suggesting the need to replicate this type of trial. Adjusting based on adjacent plots of Bbt 50 improved the correlation matrices. The 107 rice varieties evaluated were classified as R, MR, MS and S, according to the statistical comparison of their deviation from Bbt 50. Commercial varieties from countries under risk of an "hoja blanca" epidemic were in class MS or better. Management of variety and other factors influencing disease development are suggested.

INTRODUCCION

La hoja blanca es la única enfermedad viral del arroz (*Oryza sativa* L.) en el continente americano. Esta enfermedad, transmitida por el insecto *Sogatodes oryzicola* (Muir), se caracteriza por el color amarillo pálido de las hojas de macollas infectadas. Cuando la infección ocurre durante las primeras

COMPENDIO

Con el objetivo de caracterizar las variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) de América Latina por su reacción al virus de hoja blanca, se establecieron tres experimentos replicados de campo y uno de invernadero durante 1987 a 1988 en Palmira, Col. Se expusieron plántulas de 12 d a 15 d de edad en una colonia del insecto *Sogatodes oryzicola* (Muir) con aproximadamente 90% de vectores activos, durante 10 d en el campo y 3 d en el invernadero. Se estimó el porcentaje de plantas con síntomas de hoja blanca 10 d, después del período de exposición en el campo, y 10 d y 20 d, en el invernadero. Los testigos Bluebonnet 50 (Bbt 50), Cica 8, Metica 1, Oryzica 1 y Colombia 1 fueron clasificados como susceptible (S), moderadamente susceptible (MS), moderadamente resistente (MR) y resistente (R), respectivamente, con base en comparaciones estadísticas. "Cica 8" se clasificó como susceptible cuando fue sembrado al azar. Las correlaciones entre y dentro de los experimentos fueron relativamente bajas y algunas no significativas, lo que indica la necesidad de replicar este tipo de evaluaciones. El ajuste según la reacción del testigo Bbt 50 más cercano mejoró las relaciones entre las diferentes observaciones. Las 107 variedades evaluadas fueron clasificadas en R, MR, MS y S según las comparaciones con respecto a Bbt 50. Por lo menos, el 50% de las variedades evaluadas fueron S. Las variedades comerciales de países con mayor riesgo de hoja blanca por lo general fueron MS o mejores. Se sugiere el manejo de la variedad junto con los demás factores que inciden en el desarrollo de la enfermedad.

Palabras claves : *Oryza sativa* L., evaluación germoplasma, *Sogatodes oryzicola* (Muir), ajuste de testigos, variedades americanas, variedades filipinas.

etapas de desarrollo dos a cuatro semanas, se observa enanismo y esterilidad. Además se presentan infecciones tardías en diferentes niveles de reducción en crecimiento, tamaño de la panícula y desarrollo de los granos.

Resumiendo los informes sobre la incidencia de la enfermedad, Adair *et al.* (1) indicaron que los síntomas de hoja blanca fueron detectados en Panamá en 1952, en Cuba en 1954, en Venezuela en 1956, en Costa Rica en 1958 y en Colombia y Estados Unidos de América en 1957. Garcés Orejuela *et al.* (6) señalaron que la hoja blanca se había observado en el Valle del Cauca y otras regiones arroceras de Colombia desde 1935. También se reconoció el carácter comercial de la enfermedad en Ecuador y Perú (2, 18). En este último país, la susceptibilidad a la hoja blanca fue la causa principal del retiro de la variedad IR 8 de siembras comerciales.

1 Recibido para publicación el 23 de mayo de 1989.
Los autores agradecen a María Cristina Amézquita, por su ayuda en el análisis de los datos, y a Alicia Pineda, por su colaboración en el manejo de los insectos

* Coordinador y Asistente de Investigación, respectivamente, del Programa de Pruebas Internacionales de Arroz para América Latina (IRIP), Apartado Aéreo 6713, Cali, Col.

** Consultor Estadístico USD y Asistente de Investigación, respectivamente, Programa de Arroz. CIAT, Apartado Aéreo 6713, Cali, Col.

Se conocen pérdidas hasta del 100% en términos comerciales, probablemente como resultado de la decisión de no cosechar por parte de los agricultores (8). En Cuba (16), se estimó que un 35% de las macollas afectadas provocaron en un 16% de reducción en rendimiento a nivel de campo y un 13% adicional durante el proceso de molinería.

La resistencia varietal se ha considerado como la forma de control ideal para esta enfermedad. Uno de los principales inconvenientes en el desarrollo de variedades resistentes es la inconsistencia y baja eficiencia de los métodos de evaluación. Estos métodos dependen de infección natural y sólo se podrían someter los materiales a una prueba de un máximo de 15% de insectos vectores (4). Esto genera inconsistencias cuando se comparan sus resultados con evaluaciones realizadas en condiciones controladas de invernadero (5, 9). Lamey *et al.* (12) encontraron que las variedades Sadri, British Guiana No. 79, Dima y Krakti, conocidas como resistentes a nivel de campo, mostraron susceptibilidad en invernadero.

Zeigler *et al.* (21) diseñaron un método de evaluación basado en la liberación restringida de colonias de *S. oryzae* altamente vectoras, lo que permitió la evaluación de un gran número de líneas. En este trabajo se presenta la caracterización de las variedades de arroz de América Latina, de acuerdo con el método de liberación controlada, y se ajusta el nivel de infección con base en la reacción de testigos conocidos sembrados conjuntamente con los materiales en caracterización. Esta información sería útil para el manejo integrado de la enfermedad en condiciones comerciales.

MATERIALES Y METODOS

Se evaluaron setenta y cuatro variedades de arroz recomendadas para siembras comerciales en América Latina durante los últimos veinte años por su reacción al virus de hoja blanca durante el segundo semestre de 1987 y los dos semestres de 1988 en Palmira, Col. Además se usaron como referencia diecisiete variedades comerciales de EE.UU. y dieciséis de Filipinas.

En cada uno de los tres semestres, se sembraron 3 g de semilla de cada variedad en surcos de 1.0 m de largo, en un campo bajo riego protegido en el perímetro por hileras de caña brava (*Saccharum sinensis* L.). Se establecieron dos repeticiones de cada variedad. Por cada cuarenta variedades de prueba, se sembraron cinco surcos con cinco variedades-testigo: Bbt 50, Cica 8, Colombia 1, Metica 1 y Oryzica 1. Durante el primer semestre de 1988 se sembró en condiciones de

invernadero, usando jaulas con capacidad para 180 materos. Se prepararon diez materos por variedad con diez plantas de doce días cada una y se colocaron en las jaulas, incluyendo cinco materos de cuatro testigos: Bbt 50, Colombia 1, Cica 8 y Oryzica 1, distribuidos al azar.

Los insectos utilizados para la evolución provenían de una colonia con al menos un 90% de insectos vectores activos, siguiendo el mismo procedimiento de manejo descrito por Zeigler *et al.* (21). Los insectos fueron eliminados con insecticidas 10 d después de la liberación y la evaluación de los síntomas se realizó 10 d más tarde. La densidad de insectos utilizada en las jaulas del invernadero fue de cinco insectos por planta durante tres días. En estas condiciones, se realizó una segunda evaluación a los 20 días, la cual se usó para los análisis. Las evaluaciones se realizaron contando las plantas con síntomas de hoja blanca, cuyo número se expresó como porcentaje del total.

Los análisis realizados incluyeron el comportamiento de los cinco testigos utilizados, el cálculo de las correlaciones entre las evaluaciones de repeticiones dentro y entre experimentos, y los análisis de variancia con los datos originales y las desviaciones de acuerdo con la reacción de los testigos. Las desviaciones se calcularon usando el promedio de los testigos por repetición y la gradiente de infección entre testigos adyacentes. Este último sistema se usó sólo para los datos de campo, dividiendo la diferencia entre posiciones adyacentes entre 40 (número de surcos que las separaban), y se estimó una media del testigo para cada posición dentro del intervalo. La desviación se calculó usando la media del testigo y la evaluación del material de prueba en cada posición.

RESULTADOS

De acuerdo con el análisis de variancia de los datos de reacción al virus de hoja blanca en condiciones de campo e invernadero de las cinco variedades-testigo utilizadas, sólo se detectó una diferencia significativa entre variedades. Esto indica que, en general, la reacción promedio en los experimentos fue similar y que el comportamiento relativo de los testigos se mantuvo en las diferentes pruebas. De la comparación estadística del número promedio de plantas con síntoma de hoja blanca, se obtuvo una clasificación de estos materiales en cuatro clases (Cuadro 1).

Todas las correlaciones entre experimentos de campo y e invernadero fueron significativas, aunque relativamente bajas (Cuadro 2). Los valores estimados para repeticiones del mismo experimento muestran que la correlación en el experimento del segundo semestre de 1987 (1987B) no es significativamente diferente de

Cuadro 1. Reacción al virus de hoja blanca de cinco testigos distribuidos entre el material de prueba en campo e invernadero (CIAT 1987-1988).

Testigo	Origen	Plantas con síntoma de hoja blanca (%) ¹	Clasificación ²
Bluebonnet 50	EE.UU.	86.1 a	S
Cica 8	Col.	65.8 b	MS
Metica 1	Col.	59.3 b	MS
Oryzica 1	Col.	39.1 c	MR
Colombia 1	Col.	12.2 d	R

Fuente: CIAT 1987-1981

1 Promedio de cuatro experimentos (n = 24) con excepción de Metica 1 que sólo estuvo en tres (n = 20). Medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes del 0.05 de probabilidad, según la prueba de Rango Múltiple de Duncan.

2 S = Susceptible
MS = Moderadamente susceptible
MR = Moderadamente resistente
R = Resistente

cero. Se observa que estas dos repeticiones muestran los más altos valores de correlación con el experimento de invernadero, por lo que podrían representar evaluaciones complementarias. La repetición 87B-R1 pudo estar sometida a una presión de la enfermedad, muy diferente de los demás experimentos de campo, ya que muestra correlaciones no significativas con todas, menos con la 88B-R1.

La correlación de los datos con base en el promedio de cada uno de los cuatro testigos en todos los experimentos resultó en matrices de correlación muy similares a la del Cuadro 2. Sin embargo, cuando se siguió el método de ajustar según la gradiente entre testigos adyacentes en el campo, las correlaciones se alteraron significativamente en el caso de Bbt 50 y Oryzica 1 (Cuadros 3 y 4).

La estimación de las relaciones entre el experimento del invernadero fue similar a las anteriores, pero las de repeticiones, dentro del mismo experimento, mejoraron, así como también las correlaciones de 87B-R1 con las demás repeticiones. La correlación con Bbt 50 hizo que las repeticiones del experimento 87B mostraran una correlación significativa, y que 87B-R1 estuviera mejor correlacionado con 88A-R1, 88A-R2 y 88B-R1. Por esta razón, se utiliza este testigo para comparaciones posteriores. Los valores estimados siguen siendo bajos, por lo que es necesaria la réplica de experimentos de caracterización de variedades, tanto en el espacio como en el tiempo. Los estimados de correlación entre experimentos son mayores y todos significativos (Cuadro 5).

Con base en los análisis estadísticos de los datos observados y las desviaciones con respecto al testigo Bbt 50, se detectaron diferencias significativas entre experimentos y variedades en el primer caso, y entre variedades solamente en el segundo. El promedio de plantas con síntoma de hoja blanca, según los datos observados, fue 78.1% para el invernadero, 72.0% para 1988B, 67.3% para 1987B y 51.7% para 1988A. Estas diferencias no pudieron detectarse cuando se trabajó con las desviaciones con respecto a Bbt 50, que sugiere la capacidad de este ajuste para corregir a partir de las diferencias en presión de la enfermedad.

Cuadro 2. Matriz de correlación de la reacción al virus de hoja blanca en variedades de arroz en cuatro experimentos replicados (CIAT, 1987-1988)¹.

Experimento	Invernadero	87B-R1	87B-R2	88A-R1	88A-R2	88B-R1
87B-R1	0.50 **					
87B-R2	0.47 **	0.05 NS				
88A-R1	0.34 **	0.07 NS	0.49 **			
88A-R2	0.43 **	0.18 NS	0.43 **	0.30 *		
88B-R1	0.38 **	0.26 *	0.25 *	0.07 NS	0.25 **	
88B-R2	0.46 **	0.19 NS	0.51 **	0.39 **	0.33 **	0.30 **

NS, *, ** No significativa y significativas al 0.05 y 0.01 niveles de probabilidad, respectivamente (H₀: r = 0).

1 Número de observaciones varió de 82 a 130.

Cuadro 3. Matriz de correlación de la reacción al virus de hoja blanca en variedades de arroz en cuatro experimentos replicados según corrección por la reacción del testigo Bluebonnet 50 (CIAT, 1987-1988)¹.

Experimento	Invernadero	87B-R1	87B-R2	88A-R1	88A-R2	88B-R1
87B-R1	0.57 **					
87B-R2	0.51 **	0.34 **				
88A-R1	0.37 **	0.23 *	0.26 **			
88A-R2	0.43 **	0.29 **	0.33 **	0.37 *		
88B-R1	0.39 **	0.22 *	0.33 **	0.11 NS	0.27 **	
88B-R2	0.43 **	0.14 NS	0.50 **	0.47 **	0.31 **	0.26 **

NS, *, ** No significativa y significativas al 0.05 y 0.01 niveles de probabilidad, respectivamente (H₀: r = 0).

1 Número de observaciones varió de 74 a 130.

Cuadro 4. Matriz de correlación de la reacción varietal al virus de hoja blanca en variedades de arroz en cuatro experimentos replicados según corrección por la reacción del testigo Oryzica 50 (CIAT, 1987-1988)¹.

Experimento	Invernadero	87B-R1	87B-R2	88A-R1	88A-R2	88B-R1
87B-R1	0.47 **					
87B-R2	0.52 **	-0.04 NS				
88A-R1	0.35 **	0.17 NS	0.40 **			
88A-R2	0.43 **	0.34 **	0.38 **	0.45 *		
88B-R1	0.39 **	0.10 NS	0.38 **	0.45 **	0.33 **	
88B-R2	0.44 **	-0.02 NS	0.56 **	0.44 **	0.34 **	0.47 **

NS, *, ** No significativa y significativas al 0.05 y 0.01 niveles de probabilidad, respectivamente (H₀: r = 0).

1 Número de observaciones varió de 74 a 130.

Cuadro 5. Matriz de correlación de la reacción varietal promedio al virus de hoja blanca de variedades de arroz en cuatro experimentos¹.

Experimento	Invernadero	1987B	1988A
A. Datos originales			
1987B	0.74		
1988A	0.47	0.49	
1988B	0.55	0.50	0.40
B. Datos corregidos por el testigo Bluebonnet 50			
1987 B	0.71		
1988 A	0.49	0.40	
1988 B	0.55	0.42	0.45

Fuente: CIAT 1987-1988.

1 Todas las correlaciones son significativamente diferentes de cero al nivel de probabilidad 0.01. El número de observaciones varió de 73 a 119.

Utilizando la Diferencia Mínima Significativa (DMS) al 0.05 para comparar con el valor medio y la desviación con respecto a Bbt 50, se clasificaron 107 variedades en cuatro clases definidas anteriormente (Cuadro 6). Independientemente del método de clasificación, por lo menos el 50% de las variedades de América Latina muestran una susceptibilidad al virus de hoja blanca similar a Bbt 50. La variedad Cica 8, incluida dentro del experimento como otra variedad y que se había clasificado como MS en el análisis de los testigos (Cuadro 1), se clasificó como S en ambos sistemas. Esta diferencia podría deberse a la posible preferencia del insecto por Bbt en presencia de otras variedades. En la siembra de los testigos, las variedades Cica 8 y Bbt 50 siempre estuvieron cercanas, mientras que la distribución de Cica 8 en el experimento fue al azar. Esta última clasificación se acerca más a las observaciones de campo realizadas en Cica 8, ya que esta variedad ha mostrado susceptibilidad a nivel de campo (20).

La corrección por la cercanía de Bbt 50 modifica la clasificación de muchas variedades y, principalmente, como MS algunas porque el promedio observado las incluía en la clase susceptible. Nuevamente este ajuste permite homogeneizar la incidencia de hoja blanca dentro del experimento.

Cuadro 6. Clasificación de variedades de arroz para riego y secano favorecido en América y Filipinas por su reacción al virus de hoja blanca en comparación al testigo Bluebonnet 50 (Bbt 50) (CIAT, 1987-1988).

Orden (número)	Variedad	Lugar de siembra	Plantas con síntoma (%)	Clasificación 2	Desviación BBT-50 (%)	Clasificación 3
1	ALTAMIRA 7	Nicaragua	50.62	MS	-34.10	MS
2	AMISTAD 82	Cuba	66.31	S	-22.40	MS
3	ANAYANSI	Panamá	85.41	S	2.42	S
4	ARAURE 1	Venezuela	70.50	S	-14.38	S
5	ARAURE 2	Venezuela	44.41	MR	-38.13	MS
6	ARAURE 3	Venezuela	64.30	S	-26.80	MS
7	ARAURE 4	Venezuela	48.56	MS	-30.13	MS
8	BAMOA A-75	México	53.10	MS	-23.78	MS
9	BELLE PATNA	EE UU.	80.02	S	-5.40	S
10	BELLEMONT	EE UU.	57.02	MS	-28.32	MS
11	BG 90-2	Perú	66.15	S	-23.22	MS
12	BLUEBELLE	EE UU.	71.59	S	-20.35	MS
13	BLUEBONNET 50	EE UU.	78.25	S	-8.17	S
14	BR-IRGA 409	Brasil	61.63	MS	-24.52	MS
15	BR-IRGA 410	Brasil	77.67	S	-9.83	S
16	BR-IRGA 412	Brasil	75.66	S	-11.62	S
17	CAMPECHE A-80	México	53.01	MS	-32.23	MS
18	CARIBE 1	Cuba	56.84	MS	-27.45	MS
19	CENTA A-1	El Salvador	54.80	MS	-22.03	MS
20	CENTA A-2	El Salvador	73.70	S	-14.22	S
21	CHANCAY	Perú	68.01	S	-15.47	S
22	CHETUMAL A-86	México	50.62	MS	-30.50	MS
23	CICA 4	Colombia	67.60	S	-18.62	S
24	CICA 6	Colombia	70.59	S	-12.40	S
25	CICA 8	Colombia	76.86	S	-12.88	S
26	CICA 9	Colombia	56.85	MS	-22.47	MS
27	COLOMBIA 1	Colombia	19.09	R	-60.97	R
28	CR 1113	Costa Rica	67.31	S	-21.45	MS
29	CR 1707	Costa Rica	69.50	S	-18.25	S
30	CR 1821	Costa Rica	67.02	S	-26.70	MS
31	CR 201	Costa Rica	72.49	S	-17.68	S
32	CR 5272	Costa Rica	71.56	S	-18.37	S
33	CULIACAN A-82	México	77.97	S	-17.70	S
34	DAWN	EE UU.	75.02	S	-13.84	S
35	DIAMANTE	Chile	16.99	R	-58.82	R
36	DIWANI	Suriname	64.60	S	-32.97	MS
37	ECIA 67-53	Cuba	59.17	MS	-25.85	MS
38	ELONI	Suriname	53.97	MS	-38.00	MS
39	EMPASC 101	Brasil	86.76	S	1.20	S
40	EMPASC 102	Brasil	61.55	MS	-21.35	MS
41	EMPASC 103	Brasil	85.09	S	-2.17	S
42	EMPASC 104	Brasil	80.44	A	-5.17	S
43	EMPASC 105	Brasil	73.78	S	-10.98	S
44	GUAYQUIRARIO PA	Argentina	58.75	MS	-22.27	MS
45	IAC 1278	Brasil	73.26	S	-17.15	S
46	INIAP 10	Ecuador	41.17	MR	-39.42	MR
47	INIAP 415	Ecuador	46.91	MS	-46.80	MR
48	INIAP 7	Ecuador	47.22	MS	-33.73	MS

Cont. del Cuadro 6.

Orden (núm)	Variedad	Lugar de siembra	Plantas con síntoma (%)	Clasificación 2	Desviación BBT-50 (%)	Clasificación 3
49	INTI	Perú	59.68	MS	-23.55	MS
50	IR 5	Filipinas	44.04	MR	-45.05	MR
51	IR 6	Filipinas	71.05	S	-13.78	S
52	IR 8	Filipinas	73.10	S	-18.33	S
53	IR 22	Filipinas	80.79	S	-7.63	S
54	IR 36	Filipinas	72.34	S	-14.47	S
55	IR 42	Filipinas	74.14	S	-15.95	S
56	IR 43	Filipinas	77.15	S	-12.63	S
57	IR 46	Filipinas	63.21	S	-27.50	MS
58	IR 50	Filipinas	67.66	S	-25.22	S
59	IR 52	Filipinas	68.12	S	-22.18	MS
60	IR 54	Filipinas	67.10	S	-20.08	MS
61	IR 56	Filipinas	57.75	MS	-27.22	MS
62	IR 58	Filipinas	58.35	MS	-24.15	MS
63	IR 60	Filipinas	55.37	MS	-31.83	MS
64	IR 64	Filipinas	64.12	S	-15.22	S
65	IR 65	Filipinas	53.95	MS	-25.30	MS
66	IR 880-C9	Cuba	62.35	S	-16.75	S
67	IR 1529-ECIA	Cuba	54.32	MS	-25.95	MS
68	IR 841-63-5-1	Argentina	50.17	MS	-33.55	MS
69	J-104	Cuba	46.76	MS	-39.13	MR
70	JUMA 51	Rep. Dominicana	79.60	S	-9.33	S
71	JUMA 58	Rep. Dominicana	74.27	S	-13.52	S
72	JUMA 61	Rep. Dominicana	48.07	MS	-30.62	MS
73	JUMA 62	Rep. Dominicana	52.97	MS	-29.05	MS
74	L-201	EE. UU.	82.60	S	-2.03	S
75	L-202	EE. UU.	76.45	S	-8.32	S
76	LABELLE	EE. UU.	86.96	S	-4.42	S
77	LAC 23	EE. UU.	91.18	S	5.87	S
78	LACROSSE	EE. UU.	46.28	MS	-38.87	MR
79	LEBONNET	EE. UU.	86.17	S	1.58	S
80	LEMONT	EE. UU.	86.41	S	-5.27	S
81	MARS	EE. UU.	78.47	S	-7.03	S
82	METICA 1	Colombia	59.60	MS	-26.61	MS
83	NAVOLATO A-71	México	86.40	S	1.32	S
84	NEWREX	EE. UU.	78.32	S	-9.62	S
85	ORO	Chile	40.77	MR	-30.97	MS
86	ORYZICA 1	Colombia	38.09	MR	-44.88	MR
87	ORYZICA 2	Colombia	54.70	MS	-28.38	MS
88	ORYZICA 3	Colombia	39.19	MR	-42.38	MR
89	PA-2	Perú	72.01	S	-12.95	S
90	PALIZADA A-86	México	64.25	S	-16.77	S
91	PALMAR PA	Argentina	90.80	S	9.65	S
92	PANAMA 1048	Panamá	70.72	S	-14.00	S
93	PANAMA 1537	Panamá	64.02	S	-20.52	MS
94	QUELLA	Chile	55.48	MS	-28.62	MS
95	RUSTIC	Guyana	79.84	S	-6.85	S
96	SAN MARTIN 86	Perú	57.97	MS	-23.82	MS
97	SAN PEDRO	Bolivia	53.95	MS	-29.37	MS

Cont. del Cuadro 6.

Orden (núm)	Variedad	Lugar de siembra	Plantas con síntoma (%)	Clasificación 2	Desviación BBT-50 (%)	Clasificación 3
98	SINALOA A-80	México	69.30	S	-16.92	S
99	SKYBONNET	EE.UU.	84.82	S	-1.87	S
100	STARBONNET	EE.UU.	85.83	S	-1.35	S
101	TANIOKA	Rep. Dominicana	69.20	S	-15.67	S
102	TEXAS PATNA	EE.UU.	87.18	S	0.47	S
103	TIKAL 2	Guatemala	65.51	S	-24.23	MS
104	TOCUMEN 5430	Panamá	67.51	S	-24.50	MS
105	VILLAGUAY PA	Argentina	67.52	S	-15.30	S
106	WILCKE-2	Paraguay	81.30	S	-10.25	S
107	X-10	El Salvador	81.19	S	-14.40	S

1. Promedio de cuatro experimentos, tres en campo y uno en invernadero.
2. Basado en un DMS 05 = 16.4
S = Susceptible (Bbt 50 ± DMS)
MS = Moderadamente susceptible (> Bbt 50 + DMS, < Bbt 50 + 2 DMS)
MR = Moderadamente resistente (> Bbt 50 + DMS, < Bbt 50 + 3 DMS)
R = Resistente (> Bbt 50 + 3 DMS)
3. Basado en un DMS 05 = 19.4

DISCUSION

La clasificación utilizada para denominar los niveles de resistencia sigue el sistema sugerido por Lamey *et al.* (12), quienes utilizaron los mismos términos combinando observaciones del número de plantas y macollas enfermas en condiciones de campo. En experimentos posteriores, el mismo investigador señala que la determinación del número de plantas enfermas es el único criterio válido para evaluar la reacción a hoja blanca, ya que la severidad es similar en materiales inoculados durante la misma etapa de desarrollo (10).

Para relacionar esta clasificación con la escala 0-9 del Sistema de Evaluación Estándar para Arroz (3), se podrían utilizar los grados 2-3 para R, 4-5 para MR, 6-7 para MS y 8-9 para susceptible. Los primeros números de la escala (0 y 1) regularmente se usan para designar materiales casi inmunes, lo cual no se observa usualmente en experimentos de esta enfermedad, pues por lo regular se encuentran plantas con síntomas de la enfermedad en variedades resistentes.

Orellana y Ginarte (19) utilizaron una clasificación de cuatro niveles en sus evaluaciones de reacción a hoja blanca en invernadero, inoculando dos insectos por planta provenientes de colonias con 50% a 90% de vectores. La escala utilizada definía materiales altamente resistentes (0% a 10% de plantas infectadas), resistentes (11% a 30%), intermedios (31% a 60%) y

susceptibles (más de 60%). La escala utilizada en este trabajo permitió detectar diferencias entre los materiales susceptibles, definidos según esta clasificación, y los separó en MS y susceptibles. La definición de los niveles resistentes, segregante y susceptible, utilizada eficientemente para evaluar selecciones en un programa de mejoramiento (13, 21), juntaría las clases MR y MS como segregantes y reduciría la precisión de la caracterización de las variedades comerciales.

La reacción varietal al virus de hoja blanca presente en este trabajo se determinó en plantas de dos semanas de edad, utilizando una colonia con una proporción de vectores cercana al 90 por ciento. Este método asegura la infección de los materiales en prueba y, asociado con la corrección por la reacción de testigos conocidos para homogeneizar la incidencia de la enfermedad, permite una adecuada comparación de las variedades.

Las variedades informadas por otros investigadores como susceptibles en campo por ejemplo Bluebonnet 50 (Bbt 50), Cica 8 e IR 8 (9, 18) fueron confirmadas como tales. Esto indica que en condiciones favorables para el desarrollo de esta enfermedad, por lo menos la mitad de las variedades latinoamericanas correría el riesgo de tener infecciones capaces de afectar negativamente los rendimientos.

El riesgo por daños por hoja blanca en campo podría ser proporcional al porcentaje de infección observado; sin embargo, el peligro real de la siembra comercial de variedades clasificadas en las diferentes clases dependería de otras consideraciones. El primer factor por considerar sería la dosis del virus a la que estaría sometida la variedad. Por ejemplo, las variedades Metica 1 y Oryzica 1, clasificadas como MS y MR respectivamente, fueron señaladas como resistentes en experimentos de campo donde los testigos Cica 8 e IR 22 fueron susceptibles (17). Por otro lado, la variedad Lacrose (MR en este experimento) fue la principal fuente de resistencia a hoja blanca en el programa de mejoramiento de EE. UU. a finales de la quinta década (10). Se podría concluir entonces que con un manejo no favorable para el aumento de la población de *S. oryzae*, las variedades MS, MR y R podrían dar oportunidad a una reducción proporcional del riesgo de una epidemia de hoja blanca. Obviamente se contaría con más tiempo para reaccionar en el caso de variedades. Para tener igual oportunidad de lograr un manejo efectivo cuando se siembran variedades susceptibles, éstas deberán ocupar un área de siembra limitada.

Por otra parte, las infecciones de hoja blanca en INIAP 415 (MR) y Oryzica 1 (MR) causaron preocupación en Ecuador cuando se sembraron bajo frecuentes aplicaciones de plaguicidas. Es probable que estas aplicaciones indiscriminadas rompan el balance entre *S. oryzae* y sus enemigos naturales y/o aumenten la frecuencia de individuos tolerantes a los plaguicidas utilizados. Este incremento en la población del insecto podría resultar en la observación de síntomas preocupantes a nivel de campo en variedades MS y MR, aun cuando la proporción de vectores sea baja. Esto último representa un componente importante en el manejo integrado de la enfermedad, pues el muestreo permanente de la población de insectos para estimar el porcentaje de vectores en la población podría permitir la predicción de epifitias. Jennings (8) señaló que durante la epifitia de hoja blanca, que afectó la variedad Cica 8 en Colombia de 1981 a 1982, la proporción de vectores en la población de *S. oryzae* fue del 12.8 por ciento.

Numerosos estudios han asociado la variación estacional de las poblaciones de *S. oryzae* con la presencia de la enfermedad (4). Además, esta parece tener mayor importancia en ciertas regiones de algunos países de América Latina, aunque no se conocen los factores que determinan dicha prevalencia. Afortunadamente, algunas variedades comerciales de los países con mayores riesgos de hoja blanca muestran reacción entre MS y MR: Oryzica 1 (MR) y Oryzica 3 ((MR), en Colombia, Amistad 82 (MS) y J-104 (MR), en Cuba, INIAP 415 (MR), en Ecuador e Inti (MS), en

Perú. La excepción es Venezuela, donde se siembra Araure 1 (S). Se observa, además, que algunas variedades liberadas durante los últimos dos años en Colombia (Oryzica Llanos 4 y 5) y en Perú (Amazonas) son resistentes a hoja blanca (7, 14, 15). Esto último facilita el manejo integrado, ya que la resistencia puede vencerse con un alto potencial de inóculo, especialmente en plantas jóvenes (11).

Aunque no se puede precisar la población en promedio de insectos por planta obtenida en los experimentos de campo, la comparación de los resultados con los obtenidos por Orellana y Ginarte (19) con dos insectos vectores por planta, en plántulas de 12 a 15 días de edad, sugiere que la dosis fue ligeramente mayor. Ellos señalan las variedades IR 5 y Cica 4 como resistentes, mientras que las observaciones en este estudio las clasifican como MR y S, respectivamente. Las variedades IR 8, IR 22, Dawn y IR 880-C9, comunes en ambos experimentos, fueron susceptibles en los dos casos.

CONCLUSION

Las variedades de arroz de América Latina se clasifican en resistentes (R), moderadamente resistentes (MR), moderadamente susceptibles (MS) y susceptibles (S), de acuerdo con su reacción al virus de hoja blanca relativa a la variedad-testigo Bluebonnet 50. Se observó que más del 50% de las variedades fueron susceptibles. Las que se siembran comercialmente en países con riesgo de hoja blanca tales como Colombia, Ecuador y Perú mostraron niveles de resistencia a la MS o mayores. La información sobre la reacción de las variedades al virus de hoja blanca debe asociarse con otras medidas de manejo para reducir la incidencia de la enfermedad.

LITERATURA CITADA

1. ADAIR, C.R.; MCGUIRRE, J.U.; J.G. ATKINGS. 1958. Summary of research on hoja blanca. *Rice Journal* (EE.UU.) 61(18)15,17, 39-40.
2. ARMIJOS, F.; SANCHEZ, F.; DELGADO, J.C.; ESPINOZA, A. 1984. Research achievements with hoja blanca in rice in Ecuador. In Conference of the IRTP for Latin America (5, Cali, Col.). Report. Centro Internacional de Agricultura Tropical. p 78-81.
3. CIAI (CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL) 1983. Sistema de evaluación estándar para arroz. CIAT, Cali, Col. 61 p.
4. GALVEZ, G.E. 1969a. Hoja blanca disease of rice. In The virus diseases of the rice plant. Baltimore, Md., John Hopkins Press. p 35-49.

5. GALVEZ, G.E. 1969b. Transmission of hoja blanca virus of rice. In *The virus diseases of the rice plant*. Baltimore, Md., John Hopkins Press p. 155-163.
6. GARCÉS OREJUELA, C.; JENNINGS, P.R.; SKILL, R.L. 1958. Hoja blanca of rice and the history of the disease in Colombia. *Plant Disease Reporter (EE UU)* 42(6):750-751.
7. HERNÁNDEZ LEYTON, J. 1989. Utilización en el Perú de los recursos genéticos de arroz desarrollados por los centros internacionales. In *Evaluación cooperativa del germoplasma de arroz en América Latina*. Cali, Col., Centro Internacional de Agricultura Tropical p. 234-247.
8. JENNINGS, P.R. 1963. Estimating yield loss in rice caused by hoja blanca. *Phytopathology (EE UU)* 53(4):492.
9. JENNINGS, P.R. 1984. Recent studies of hoja blanca and its vector. In *Conference of the IRTP for Latin America (5, Cali, Col.)*. Report. Centro Internacional de Agricultura Tropical p. 87-95.
10. LAMEY, H.A.; LINDBERG, G.D.; BRISTER, C.D. 1964. A greenhouse testing method to determine hoja blanca reaction of rice selections. *Plant Disease Reporter (EE UU)* 48(3):176-179.
11. LAMEY, H.A.; GONZÁLEZ, J.; ROSERO M.; ESTRADA, F.; KRULL, C.F.; ADAIR, C.R.; JENNINGS, P.R. 1964. Field reaction of certain varieties to the hoja blanca virus. *Plant Disease Reporter (EE UU)* 48:462-465.
12. LAMEY, H.A.; EVERETT, T.R.; BRISTER, C.D. 1968. Influence of developmental stage of rice plant on susceptibility to hoja blanca virus. *Phytopathology (EE UU)* 58:1168-1170.
13. LAMEY, H.A. 1969. Varietal resistance to hoja blanca. In *The virus diseases of the rice plant*. Baltimore, Md., John Hopkins Press. p. 293-311.
14. LEAL M., D.; DAVALOS R., A.; URUEÑA G., E. 1988. Oryzica Llanos 4 variedad de arroz de alta producción. Instituto Colombiano Agropecuario. Plegable de Divulgación no. 213. 8 p.
15. LEAL M., D.; DAVALOS R., A.; URUEÑA G., E. 1988. Oryzica Llanos 5 variedad de arroz resistente a enfermedades y plagas. Instituto Colombiano Agropecuario. Plegable de Divulgación no. 214. 8 p.
16. McMILLIAN, W.W.; McGUIRE, J.U.; LAMEY, H.A. 1960. Relationship of hoja blanca to the inoculation point and to the age and yield of rice plants. *Plant Disease Reporter (EE UU)* 44(6):387-389.
17. MUÑOZ, D.; GARCÍA, E. 1983. Oryzica 1 y Metica 1: Nuevas variedades resistentes al virus de la hoja blanca. *Noticias de la Comisión Internacional del Arroz (Italia)* 32(2):31-33.
18. OLAYA VIERA, R. 1984. Present situation and recent studies of hoja blanca and its vector in Peru. In *Conference of the IRTP for Latin America (5, Cali, Col.)*. Report. Centro Internacional de Agricultura Tropical. p. 81-82.
19. ORELLANA PEREZ, P.; GINARTE LAGART, A. 1977. Resistencia varietal del arroz (*Oryza sativa* L.) a la enfermedad hoja blanca. *Centro Agrícola (Cuba)* 4(1):83-99.
20. VARGASZ, J.P. 1985. La hoja blanca: Descalabro del Cica 8. *Arroz (Col)* 34(334):18-19.
21. ZEIGLER, R.S.; RUBIANO, M.; PINEDA, A. 1988. A field screening method to evaluate breeding lines for resistance to the hoja blanca virus. *Annals of Applied Biology (U.K)* 112:151-158.

Dieta Artificial para la Crianza de *Podisus connexivus* (Hemiptera: Pentatomidae)¹

J.L.D. Saavedra*, J.C. Zanuncio**,
T.M.C. Della Lucia**, E.F. Vilela**

ABSTRACT

After several trials the first artificial diet was obtained for *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae) an important predator of *Eucalyptus* defoliators in Brazil. This research was developed under $24.5 \pm 3.6^\circ\text{C}$ of temperature, $62.5 \pm 3.1\%$ of relative humidity and a photoperiod of 12 hours. Components of the artificial diet were: liver and cattle meat, sucrose and macerated caterpillars of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). Nymphal duration of the predator bug were 22.23 and 23.67 days in the artificial diet and *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) larvae, respectively. Survival during the nymphal period were 83.1% and 67.8% on artificial diet and *M. domestica*, respectively. Mean weight for nymphs of 3o., 4o. and 5o. instars were similar for both treatments. Male and female weight were 46.87 mg and 46.27 mg, and 62.59 mg and 59.90 mg for artificial diet and *M. domestica* treatment, respectively.

INTRODUCCION

Uno de los factores más importantes que limitan la crianza de enemigos naturales en programas de control biológico es la constante dependencia de hospederos naturales o alternativos, que también deben ser criados.

COMPENDIO

Después de muchas tentativas, se encontró una dieta artificial para el desarrollo ninfal de *Podisus connexivus* Bergroth, 1891, (Hemiptera: Pentatomidae), un depredador importante de larvas de lepidópteros en los eucaliptales brasileños. El trabajo fue conducido en condiciones controladas de laboratorio de $24.5^\circ\text{C} \pm 3.6^\circ\text{C}$ de temperatura, $62.1\% \pm 3.1\%$ de humedad relativa y fotoperíodo de 12 horas. Los ingredientes de la dieta artificial que dieron los mejores resultados, fueron: hígado y carne gorda de bovino, sacarosa y larvas maceradas de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). La duración de la fase ninfal de *P. connexivus* fue de 22 d con la dieta artificial y 24 d cuando se alimentó con larvas de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). La viabilidad ninfal fue de 83.1% y 67.8% con la dieta artificial y larvas de mosca, respectivamente. El peso medio de ninfas de la tercera, cuarta, y quinta fases no tuvo una diferencia significativa para ambos tipos de alimentación. En el estado adulto para la alimentación con dieta artificial y larvas de *M. domestica*, el peso respectivo de los machos fue de 46.9 mg y 46.3 mg, y 62.6 mg y 59.9 mg el de las hembras. Este es el primer registro de una dieta artificial para un hemíptero depredador, en el Brasil.

En los últimos años ha habido un gran avance en el área de dietas artificiales, en razón del aumento de conocimiento de nutrición de insectos. Existen más de 1000 especies de insectos criados en medios artificiales, incluyendo casi todos los órdenes de importancia agrícola. Sin embargo, estas técnicas aún están en desarrollo para el caso de insectos entomófagos (4).

P. connexivus ha sido encontrado en varias regiones del Brasil atacando larvas de lepidópteros, como *Thyrineina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae), una de las principales plagas de los eucaliptales brasileños. En muchos casos, los factores naturales o la acción del hombre inhiben el incremento oportuno de la densidad poblacional del depredador. Debe tomarse en cuenta que una buena alternativa para favorecer el aumento de su población y su acción depredadora sería la crianza en laboratorio y posterior liberación al campo.

Este trabajo se realizó con el fin de obtener una dieta artificial que permita el desarrollo normal de *P. connexivus*, tomando como base una dieta artificial para el hemíptero depredador *Gregoris punctipes* (2).

¹ Recibido para publicación el 19 de mayo de 1991. Parte de la Tesis de Maestrado en Entomología, presentada por el primer autor a la Universidad Federal de Vicosa (UFV), Vicosa, Minas Gerais, Bra. Los autores desean manifestar su agradecimiento al BIOAGRO/UFV, CNPq, FAPEMIG, FINEP, Fundación Rotaria y SIF, por la ayuda concedida para la ejecución de este trabajo.

* Becario de la Fundación Rotaria; Universidad Nacional y Pedro Ruiz Gallo; Apartado 3-Lambayeque, Perú.

** Departamento de Biología Animal, UFV, 36570-Vicosa, Minas Gerais, Bra

MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Entomología Forestal de la *Universidade Federal de Viçosa*, en el Estado de Minas Gerais, Bra. En condiciones controladas de $24.5^{\circ}\text{C} \pm 3.6^{\circ}\text{C}$ de temperatura y $62.1\% \pm 3.1\%$ de humedad relativa, con el fotoperíodo regulado a 12 h de luz.

Procedencia del insecto

Fueron utilizadas ninfas de *P. connexivus* del Laboratorio de Entomología Forestal, donde este es criado con larvas de *M. domestica*.

Preparación de la dieta

Después de muchas tentativas con resultados insatisfactorios, fue probada la siguiente dieta: 100 g de hígado de bovino, 100 g de carne gorda de bovino, 50 ml de solución de sacarosa al 5% y 62.5 g de larvas de la cuarta y quinta etapas de *B. mori*. Los ingredientes fueron licuados de 4 min a 5 min hasta la obtención de una pasta homogénea. Seguidamente fueron agregados los desinfectantes nipagin (antifúngico) al 0.5% y tetraciclina (antibiótico) a 0.05 por ciento. La dieta así obtenida fue almacenada en bolsas de polietileno y guardadas en un congelador, por un tiempo máximo de siete días, de acuerdo con procedimientos encontrados en otros trabajos de dietas artificiales (2, 3, 5, 6).

Confección de las larvas artificiales

La dieta fue retirada del congelador y se expuso a temperatura del ambiente hasta su descongelación. Seguidamente, la dieta fue transferida a una jeringa de 5 ml sin aguja, y depositada sobre pedazos de Parafilm de 2 cm x 3 cm, previamente estirado, de tres a cuatro veces su tamaño normal, y luego enrollada, simulando la forma de la larva de un insecto.

Las larvas artificiales, así preparadas, se ofrecieron diariamente a las ninfas, mojando la superficie del Parafilm con macerado de larvas de *B. mori* como fagoestimulante.

Material de crianza

Se usaron vasos de plástico de 500 ml (9.5 cm de altura y 10 cm de diámetro), cuya tapa tenía una abertura en el centro, cubierta con una fina tela para dar ventilación y sobre la cual se colocó la dieta. A un lado de la tapa había un orificio donde se encajó un fino tubo de vidrio, con el lado superior sellado y el inferior tapado con algodón, por medio del cual se ofreció agua

a los insectos. Dentro del vaso se colocó un papel común, con dobleces longitudinales, para aumentar el área superficial de desplazamiento, y, al mismo tiempo, como absorbente de las heces.

Tratamiento en estudio

Se realizaron dos tratamientos: alimentación de las ninfas con dieta artificial y con larvas de *M. domestica*. En ambos casos se inició con ninfas de segundo estadio, pues durante el primero sólo ingieren agua y permanecen agrupadas junto a los huevos de donde emergieron.

Técnica de crianza

En ensayos preliminares se advirtió que el desarrollo de las ninfas en cada vaso no era uniforme y que las pequeñas depredaron a las más grandes. Por eso, en el presente experimento, se optó por la siguiente técnica: fueron distribuidas 60 ninfas de la segunda fase, en tres vasos, para cada tratamiento. Las que pasaron a la tercera se reagruparon en número de diez por vaso, cuidando que las ninfas de cada vaso hubieran mudado de estadio en el mismo día. De la misma manera, las ninfas de la cuarta y quinta etapa se reagruparon en número de cinco ninfas por vaso. De esta manera, la duración de cada fase se midió con exactitud y el canibalismo fue nulo.

Evaluaciones

Se efectuaron observaciones diariamente, con el fin de registrar el número de ninfas que mudaban de estadio en cada vaso y la mortalidad por etapa. También se obtuvo el peso de las ninfas, del segundo al quinto estadio, el primer día de iniciado el estadio respectivo. Para efecto del peso, se criaron ninfas adicionales en vasos, con la misma técnica antes descrita. Se pesaron las ninfas del segundo estadio en grupos de veinte, las del tercero en grupos de diez, las del cuarto en grupos de cinco y las del quinto se pesaron individualmente. Los adultos obtenidos fueron sexados y pesados uno por uno. Para eso se usó una balanza con 0.001 g de precisión.

Análisis estadístico

Se realizó el análisis de variancia para la duración, viabilidad y peso de la segunda a quinta fase, así como también para el peso de adultos machos y hembras.

RESULTADOS Y DISCUSION

Fue importante el hecho de haberse obtenido adultos de *P. connexivus* con la alimentación de la dieta artificial, más aún, no se encontró diferencia significativa,

en los parámetros evaluados, con la alimentación de larvas de *M. domestica*.

Período ninfal

La duración de cada etapa, excepto la segunda, fue menor con la dieta artificial que con larvas de *M. domestica*, aunque la diferencia no fue significativa (Cuadro 1). La duración total de la fase ninfal fue 22.0 d y 23.7 d, con dieta artificial y larvas de mosca, respectivamente. Teniendo en cuenta que el período de incubación de los huevos de donde provinieron las ninfas fue de 5.3 d, se obtuvo una duración del ciclo biológico de huevo a adulto, de 27.5 d para la dieta artificial y de 29 d para la de larvas de mosca. Esto significa que la dieta artificial obtenida contiene, en calidad y cantidad, todos los nutrimentos necesarios para el desarrollo de la fase ninfal de *P. connexivus*. Por otro lado, en otro trabajo, los resultados de una dieta artificial para *P. sagittus* dio un período ninfal aproximado al doble en comparación con la alimentación basada en insectos vivos (1).

Viabilidad ninfal

La viabilidad de cada estadio de *P. connexivus* fue mayor cuando se alimentó con la dieta artificial, aunque la diferencia no fue significativa para todos las etapas, excepto la tercera (Cuadro 1). La viabilidad de la fase ninfal fue 83.1% y 67.8%, para dieta artificial y *M. domestica*, en ese orden.

Cuadro 1. Duración media, en días, e viabilidad de cada estadio de *P. connexivus*, alimentado con dieta artificial o larvas de *M. domestica* (Viçosa, M.G. 1990).

Instar	Duración (días) ¹		Viabilidad (%) ¹	
	Dieta	Larva	Dieta	Larva
1°*	4.09 a	4.09 a	91.9 a	91.9 a
2°	3.93 a	3.90 a	95.0 a	95.0 a
3°	3.50 a	4.29 a	100.0 a	85.0 b
4°	4.38 a	4.79 a	98.0 a	91.4 a
5°	6.33 a	6.60 a	97.1 a	100.0 a
Total	22.23	23.67	83.1	67.8

* Durante el primer estadio sólo ingieren agua.

1 Medias seguidas por la misma letra, no presentan diferencia significativa, a 5% de probabilidad, por la prueba de F.

Una dieta artificial con ingredientes casi iguales a los utilizados en el presente trabajo dio una viabilidad menor en *G. punctipes* (2). Probablemente, la adición de larvas de *B. mori*, a la dieta artificial obtenida, es la responsable de la mayor viabilidad. Por otro lado, *P.*

sagittus también fue alta en una dieta artificial exenta de insectos vivos (1).

Peso de ninfas

No hubo diferencia significativa en el peso de las ninfas de la segunda, tercera, cuarta y quinta fase entre ambos tipos de alimentación; sin embargo, las medias obtenidas fueron superiores en los insectos alimentados con dieta artificial (Cuadro 2).

Cuadro 2. Peso medio (mg) de ninfas de *P. connexivus*, del segundo al quinto estadios, alimentadas con dieta artificial o larvas de *M. domestica* (Viçosa, MG, 1990).

Estadio	Dieta ¹	Larva ¹
2°	0.53 a	0.53 a
3°	3.35 a	3.23 a
4°	10.21 a	9.82 a
5°	25.56 a	24.03 a

1 Medias seguidas por la misma letra, no presentan diferencia significativa, a 5% de probabilidad, por la prueba de F.

Peso de adultos

Los adultos de ambos sexos, después de la alimentación con dieta artificial, fueron más pesados, pero no significativamente (Cuadro 3). Adidharma (1) señala que los adultos de *P. sagittus* obtenidos con dieta artificial alcanzaron apenas la mitad del peso de aquellos alimentados con insectos vivos.

Por la escasa información que existe en dietas artificiales para hemípteros predadores, los resultados encontrados en el presente trabajo son muy alentadores.

AQUI Cuadro 3

Cuadro 3. Peso medio (mg) de adultos de *P. connexivus*, obtenidos de alimentación con dieta artificial o larvas de *M. domestica* (Viçosa, M.G., 1990).

Sexo	Dieta	Larva
Macho*	46.87 a	46.27 a
Hembra*	62.59 a	59.90 a

* Medias seguidas por la misma letra, no representan diferencia significativa, a 5% de probabilidad, por la prueba de F.

Apariencia externa de los adultos

De 26 hembras obtenidas en la alimentación con dieta artificial, cinco de ellas tuvieron algún defecto en la conformación de las alas, estas aparecían dobladas o mal desplegadas. En cambio, para las alimentadas con larvas de mosca, de 22 hembras, sólo una presentó el mismo problema en las alas. Para ambos tratamientos, los machos presentaron una apariencia externa normal.

Esta es la primera dieta artificial obtenida para hemípteros depredadores en el Brasil. Aunque parte de la dieta es conformada por tejidos de insectos, estudios posteriores podrían reemplazar los nutrimentos que ellos proporcionan a la presente dieta artificial. Por otro lado, por el buen peso de los adultos, es probable que las hembras tengan una capacidad reproductiva comparable a la de aquellas que se alimentan de insectos vivos.

LITERATURA CITADA

1. ADIDHARMA, D. 1986. The development and survival of *Podisus sagittus* (Hemiptera: Pentatomidae) on artificial diets. *Journal Australian of Entomology Society* 25(1):15-16.
2. COHEN, A. C. 1985. Simple method for rearing the insect predator *Geocoris punctipes* (Heteroptera: Lygacidae) on a meat diet. *Journal of Economic Entomology* 78(5):1173-1175.
3. DEBOLT, J. W. 1982. Meridic diet for rearing successive generations of *Lygus hesperus*. *Annals of the Entomological Society of America* 75(2):119-122.
4. SINGH, P. 1985. Multiple species rearing diets. In *Handbook of insect rearing*. P. Singh, R. F. Moore (Eds). Elsevier v 1, p 19-44.
5. VANDERZANT, E. S. 1967. Rearing lygus bugs on artificial diets. *Journal of Economic Entomology* 80(3):813-816.
6. VANDERZANT, E. S. 1969. An artificial diet for larvae and adults of *Chrysopa carnea*, an insect predator of crop pests. *Journal of Economic Entomology* 62(1):256-257.

LIBRO RECOMENDADO



US\$8.00

Ecología Basada en Zonas de Vida L.R. Holdridge. 3a. reimpr. 1987. 216 p. ISBN 92-9039-131 6.

Esta obra, traducción de Life Zones Ecology (1966), presenta un sistema objetivo para clasificar los ecosistemas terrestres en unidades ecológicas básicas, denominadas zonas de vida, con base en los factores climáticos mayores: temperatura, precipitación y humedad. El texto está dirigido principalmente a ecólogos, dasónomos y otros profesionales y estudiosos de los recursos naturales.

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

Caracterización Agroindustrial de Plantas de Probeta de *Saccharum* spp.¹

G. Velázquez*, G. Carrillo**

ABSTRACT

In a sample of plants developed from 200 mature stems, generated from test tube plants *Saccharum* spp., redifferentiated from four month-old culture cells, an analysis was made of 15 phenotypic characteristics in order to determine the level of stability, based on their origin. As to the color of the stem, maturity curve, flowering and susceptibility to *Puccinia melanocephala* Syd., the response of the plants was similar to that of the control plants, when comparing the average values of the two populations. In an analysis of the behavior of the plants, at the level of subplots (20 subplots, with ten rows each), no significant differences were noted with regard to the sprouting of buds, the length of the 3rd leaf, the width of the third half of the 3rd leaf, the first determination of Brix in the field and the sample weight of the eight. The values of the coefficient of variation of the percent of sprouting or clustering of buds, regardless of the populations analyzed, were the highest, as well as the lesions caused by *P. melanocephala*. Given the nature of the information obtained, we feel that micropropagation can be used in conserving the genetic resources of this grass, for the mass multiplication of plants selected for their outstanding characteristics during traditional breeding processes, and for generating transgenic plants with specific modifications, given the increasing possibilities for manipulating biologicals at the molecular and cellular levels.

COMPENDIO

En una muestra de plantas desarrolladas a partir de 200 tallos maduros generados de plantas de probeta de *Saccharum* spp., rediferenciadas de cultivos de células de cuatro meses de edad, se analizaron 15 características fenotípicas para determinar su grado de estabilidad como consecuencia de su origen. En cuanto al color del tallo, curva de madurez, floración y susceptibilidad a *Puccinia melanocephala* Syd., las plantas se comportaron de manera semejante al testigo, cuando se compararon los valores de la media de las dos poblaciones. En el análisis del comportamiento de las plantas a nivel de sublotos (20 sublotos con 10 surcos cada uno), no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de brotación de yemas, longitud de la hoja 3, ancho del tercio medio de la hoja 3, primera determinación de Brix de campo y peso de muestra de ocho tallos. Los valores del coeficiente de variación del porcentaje de brotación de yemas y de amacollamiento, independientemente de la población de que se trate, fueron de los más altos, así como el de lesiones causadas por *P. melanocephala*. Por la información obtenida, la micropropagación puede ser utilizada en la conservación de los recursos genéticos de esta gramínea, para la multiplicación masiva de plantas seleccionadas por sus características sobresalientes en los procesos de mejoramiento genético tradicionales y para generar plantas transgénicas con modificaciones definidas, dadas las posibilidades que existen cada vez más amplias para manipular, en los niveles molecular y celular, los materiales biológicos.

INTRODUCCION

Saccharum officinarum es un cultivo de importancia industrial, que representa un recurso renovable del que se obtiene, además de sacarosa, otros productos de semejante o mayor valor agregado al del dulce, como el alcohol carburante, aditivos, solventes, proteína celular, material de construcción y otros (3, 12, 13, 14), lo que permite hacer un aprovechamiento integral de recurso.

Esta tendencia se ha impulsado con la creación de programas de diversificación para la utilización del cultivo, lo que ayudará a incrementar los requerimientos de nuevas variedades que se ajusten más específicamente a las necesidades de producción, los cuales podrán satisfacerse con la aplicación de técnicas fundamentales de biotecnología agrícola (16), para acelerar los procedimientos de obtención de nuevas plantas (19, 1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10); permitir el intercambio de material biológico de manera más segura y eficiente, además de preservar las variedades en óptimas condiciones aplicando sistemas de criopreservación.

El objetivo del presente trabajo fue conocer el grado de estabilidad genética de plantas de probeta de *Saccharum* spp., utilizando como criterio el estudio de quince características fenotípicas determinadas en las plantas obtenidas a partir de 200 tallos de la variedad B4362 cultivadas en el Campo Agrícola Experimental

1 Recibido para publicación el 25 de mayo de 1990.

* Parte de la Tesis para optar al grado de Maestría en Ciencias; Centro de Genética, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Méx. 56230, Méx.

** Profesor Investigador Titular, Centro de Genética, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Méx. 56230, Méx.

del Instituto para el Mejoramiento de la Producción de Azúcar (IMPA) en Córdoba, Veracruz. Los doscientos tallos fueron seleccionados de plantas cultivadas hasta madurez fisiológica en el Campo de Investigaciones Forestales y Agropecuarias de Morelos, Zacatepec, Morelos, las cuales fueron rediferenciadas a partir de doscientos cultivos de células rediferenciadas de cuatro meses de edad.

MATERIALES Y METODOS

Doscientos tallos maduros de *Saccharum* spp. variedad B4362, desarrollados en el Campo de Investigaciones Forestales y Agropecuarias de Morelos que tuvieron su origen en doscientos cultivos de células rediferenciadas de cuatro meses de edad (4), fueron transportados al Campo Agrícola Experimental del IMPA, en donde fueron sembrados, cada tallo en un surco de 2 m de longitud. Se denominan clones a las plantas de cada surco, por tener su origen en un solo tallo. Cada cinco surcos se intercaló un tallo del cultivar original B4362, obtenido por medios convencionales en el Campo Agrícola Experimental del IMPA, que sumó un total de 48 surcos, utilizados como referencia. La distribución del material en el campo se realizó en forma similar a la "fase surco" del proceso de selección de híbridos del IMPA (8), que permite observar el comportamiento global de las dos poblaciones (plantas propagadas *in vitro* y generadas convencionalmente) y por grupos. Para eso, el lote experimental se dividió en veinte sublotos, sembrándose en cada uno diez surcos de plantas propagadas *in vitro* y cuatro réplicas del cultivar original de referencia.

Las características evaluadas en este trabajo fueron: porcentaje de brotación de yemas (V1), amacollamiento (V2), longitud (cm) de la hoja número 3 (V3), ancho (mm) del tercio medio de la hoja número 3 (V4), número promedio de lesiones de roya (*P. melanocephala*) por centímetro cuadrado (V5), primera (V6), segunda (V7), tercera (V8) y cuarta determinación de Brix de campo (V9), longitud (m) final del tallo (V10), diámetro (cm) final del tallo (V11), peso de muestra de ocho tallos (V12), Brix corregido (V13), pureza del jugo (V14) y porcentaje de sacarosa en jugo (V15). Otras determinaciones fueron: susceptibilidad a la roya, curva de madurez, color del tallo y comportamiento de la floración.

Con el fin de efectuar las observaciones del comportamiento global de cada variable en las dos poblaciones, se calcularon la media aritmética (X), desviación estándar (S) y coeficiente de variación ($CV=S/X$). A nivel de sublote se realizaron las comparaciones entre

medias y variancias, utilizando la prueba de T para medias y la de F para variancias (20).

El procedimiento de comparación de variancias fue similar al utilizado por Ploper y Mariotti (18) y Miller (17). En este caso, los grados de libertad considerados para el testigo fueron únicamente tres, en cambio para los clones fueron nueve.

RESULTADOS Y DISCUSION

Observaciones sobre las quince características estudiadas

Como criterios para evaluar el desarrollo de las plantas propagadas *in vitro* se confrontaron los valores de la media (X), desviación estándar (S) y el coeficiente de variación fenotípica (CV) de quince características agronómicas y de fábrica, de la población del cultivar original B4362 de referencia (48 surcos) y de las plantas de probeta (200 surcos). Al analizar el comportamiento de la media de cada variable se determinó que nueve presentaban valores un poco más altos en la población de referencia. En el carácter de la susceptibilidad a la roya, se detectó una media considerablemente mayor en la población de las plantas de probeta.

Los tallos de las plantas cosechados en Zacatepec, donde las plantas de probeta se desarrollaron, fueron transportados al Campo Agrícola Experimental del IMPA en Córdoba, mientras que las plantas del cultivar original B4362 que se utilizaron como semilla, se obtuvieron en el Campo del IMPA, condición que otorgó cierta ventaja inicial en la población testigo. Aunque, en este caso, sea motivo de discusión la diferente procedencia del material biológico, Ploper y Mariotti (18), y Miller (17), observaron también cierta superioridad en las características analizadas en las plantas de sus poblaciones testigo, en trabajos similares.

Los valores del coeficiente de variación del porcentaje de brotación de yemas (V1) y el de amacollamiento (V2), independientemente de la población de que se trate, fueron de los más altos. En el caso del valor del coeficiente de variación para el amacollamiento, los resultados coinciden con los alcanzados por Ploper, Mariotti (18) y Miller (17), quien trabajó con 606 clones y 29 réplicas del testigo.

Al comparar los cuatro valores de la media de Brix de campo (V6, V7, V8 y V9) de las dos poblaciones, para observar su respectiva tendencia a la madurez, se encontró que las dos curvas son semejantes (Fig. 1).

Las calificaciones sobre susceptibilidad a la roya, demostraron que ningún individuo de las dos

Cuadro 1. Valores de \bar{X} , S y CV (%) de 15 características en las poblaciones de 48 réplicas del cultivar original B 4362 y 200 clones obtenidos de plantas de probeta.

Carácter	Población	X	S	CV %
V1	Testigo	61.47	15.95	25.95
	Clones	40.10	14.83	36.98
V2	Testigo	6.45	2.26	35.04
	Clones	6.76	3.61	53.40
V3	Testigo	136.65	16.30	11.93
	Clones	137.25	16.02	11.67
V4	Testigo	44.67	5.98	13.39
	Clones	43.45	4.95	11.39
V5	Testigo	0.38	0.13	34.21
	Clones	0.48	0.16	33.33
V6	Testigo	15.66	1.35	8.62
	Clones	15.75	1.12	7.17
V7	Testigo	18.31	1.03	5.63
	Clones	18.34	1.10	6.00
V8	Testigo	20.81	1.03	4.95
	Clones	20.77	1.10	5.30
V9	Testigo	21.89	0.98	4.48
	Clones	21.57	1.13	5.34
V10	Testigo	3.15	0.20	6.35
	Clones	3.10	0.13	4.19
V11	Testigo	3.50	0.33	9.43
	Clones	3.31	0.35	10.57
V12	Testigo	15.61	2.75	17.62
	Clones	14.15	2.40	16.96
V13	Testigo	21.90	1.59	7.26
	Clones	21.51	1.69	7.86
V14	Testigo	91.60	2.05	2.24
	Clones	91.40	2.64	2.89
V15	Testigo	20.09	1.81	9.01
	Clones	19.68	1.96	9.96

poblaciones estuvo libre de pústulas y, según la escala de calificación del IMPA (8) en la segunda evaluación efectuada, el daño del patógeno se observó en grado 4, el cual es de reacción susceptible.

En relación con el color del tallo, se observó que el verde amarillento característico del cultivar B4362, fue el mismo que presentaron todas las plantas de los clones. De igual manera, en lo que respecta a la

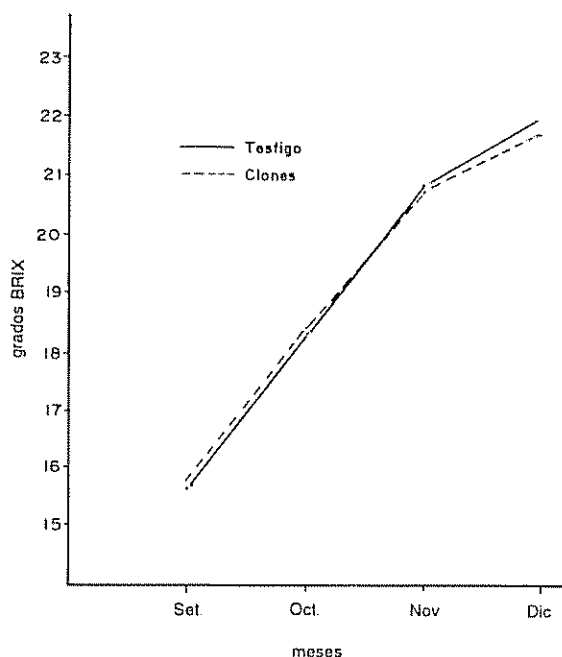


Fig. 1. Madurez del cv. B4362 (testigo) y de los clones con base en grados Brix del refractómetro manual

floración todos los individuos de la población de referencia y de probeta florecieron, en forma profusa y simultánea.

Comportamiento de las plantas en el nivel de sublote

Los resultados de la comparación de la media y la variancia del porcentaje de brotación de yemas (V1), longitud (cm) de la hoja número 3 (V3), ancho (mm)

del tercio medio de la hoja número 3 (V4), primera determinación de Brix de campo (V6) y peso de muestra de ocho tallos (V12) de cada sublote, indican que no existe diferencia significativa en los sublotes de los clones de probeta.

En el Cuadro 2 se anotan las variables en que se detectaron ciertas diferencias significativas de los valores de la media o la variancia en los clones de probeta, al analizar los veinte sublotes. Según se observa, en el caso de la media, únicamente en tres variables se encontraron diferencias significativas en los clones. Respecto de las variancias, en las diez variables indicadas, se determinaron ciertas diferencias significativas en los clones de probeta. El amacollamiento (V2) presentó un mayor número de sublotes valores de variancia mayores para los clones. En las plantas de los sublotes 10, 14 y 15 se encontraron más características con diferencias significativas.

Un análisis de las posibles causas de que existan las diferencias significativas entre medias o variancias en los sublotes señalados para las diez variables, se presenta a continuación:

Al comparar los valores de la media (Cuadro 3), se presentó un porcentaje muy bajo de casos en los que se observaron valores ligeramente mayores, pero significativos en las características V8, V11 y V14 de los clones de probeta, que les daría cierta superioridad desde el punto de vista de selección. Sin embargo, esto ocurrió en tres caracteres y un sublote, diferente para cada carácter, en cuyo caso el testigo denotó la variancia mayor. Si se considera que la variancia de la población de referencia es un indicador de la variación dada por la interacción de la planta con el ambiente, los cambios en los valores de la variancia de los clones

Cuadro 2. Identificación de las características en que se detectaron diferencias estadísticas significativas (X) en los valores de media y variancia.

Variable	Media	Número de sublote	Variancia	Número de sublote
V1			X	9,10,15,18,20
V5			X	7,9,10
V7			X	19
V8	X	16	X	3
V9			X	6,10,14
V10			X	8,12,13
V11	X	1	X	5
V13			X	14,15,16
V14	X	11	X	14,15
V15			X	15,16,18

podrían indicar otra posible fuente de variación. Los resultados de este análisis señalan que aun cuando estadísticamente se interpretan estos valores como significativos, no existe mucha congruencia en ellos porque no se observa la misma tendencia en los valores de las variables relacionadas y en el mismo subote. Por ejemplo, en la segunda, tercera y cuarta determinación de Brix de campo (V7, V8 y V9), en los datos que se muestran en el Cuadro 4, se observan diferencias significativas en los sublotes 19 (V7), 3 (V8) y 6, 10 y 14 (V9), todos diferentes.

Un hecho que pudo ocasionar alteración en los resultados fue el problema del acame, que se presentó cuando se hacían las determinaciones de la longitud y diámetro final del tallo (V10 y V11), los muestreos de tallos para obtener los cálculos de Brix corregido (V13), el porcentaje de pureza del jugo (V14) y el porcentaje de sacarosa en jugo (V15).

Las características V1, V2 y V5 presentaron las estimaciones de coeficiente de variación más altos; al respecto es importante mencionar que el menor grado de brotación (V1), observado en los clones, determinó que en un mayor número de sublotes el valor de la variancia sea mayor para el caso de amacollamiento (V2), situación que puede atribuirse a que los tallos sufrieron cierto deterioro al ser transportados de la localidad de Zacatepec a Córdoba y que las plantas se desarrollaron en ambientes diferentes. Para la determinación de lesiones de *P. melanocephala* se utilizó siempre la hoja 3 de dos plantas por surco tomadas al azar, haciendo observaciones en áreas de 1 cm² en cada uno de los tres tercios en que se dividió la lámina foliar. Este sistema de muestreo utilizado rutinariamente es muy poco preciso, porque si bien el hongo afecta las plantas, existen grandes diferencias de planta a planta y de región a región de la hoja.

Los resultados coinciden con los obtenidos por Kresovich *et al.* (11), quienes detectaron la pobre variación obtenida en sus materiales por lo que señalaron que el cultivo de tejidos, como fuente de variación, tiene una estimación muy limitada en programas de mejoramiento genético en caña de azúcar. Tew concluye (21), al hacer un análisis sobre las posibles fuentes de variación genética al aplicar procesos biotecnológicos con fines de selección, que, hasta el momento, no se puede hablar de un clon comercial de caña de azúcar logrado por cultivo de tejidos, lo cual muestra el grado de estabilidad del genoma de la célula de *Saccharum* spp.

El origen de la variación de las plantas regeneradas, a partir de las células somáticas cultivadas en estado indiferenciado *in vitro* durante cuatro meses, muy probablemente se deba a la existencia de estirpes celulares (mosaico), en la población de células que conformaban el tejido utilizado para establecer esos cultivos y, en menor grado, a las posibles mutaciones espontáneas dadas durante el periodo de cultivo de las células (aproximadamente unas 60 generaciones de células), por el nivel de ploidía. Este nivel de variación puede verse reflejado a nivel de la planta. En la población de aproximadamente 13 000 plantas estudiadas, provenientes de la muestra de 200 tallos en el que cada uno se desarrolló a partir de un explante diferente, no se detectaron grandes cambios, lo que puede atribuirse a la escasa variación y al posible origen multicelular de las plantas de probeta.

CONCLUSIONES

Dada la naturaleza de los resultados obtenidos en la presente investigación, que concuerdan con los de Kresovich (11) y Tew (21), se puede concluir que, al menos en las condiciones experimentales indicadas, las

Cuadro 3. Variancias y comparación de medias en los caracteres y sublotes en que hubo diferencias significativas a favor de los clones (se incluyen las variancias correspondientes).

Carácter	Sublote	Población	Variancia (S ²)	Media (X)	Prueba de t
V1	16	Testigo	0.58	21.13	2.23*
		Clones	0.16	21.18	
V11	1	Testigo	0.06	3.15	2.94*
		Clones	0.02	3.45	
V14	11	Testigo	3.53	91.21	2.52*
		Clones	0.39	92.82	

* Significancia al 0.05 de probabilidad

Cuadro 4. Comparación de variancias en los caracteres y sublotes en que hubo diferencias significativas a favor de los clones, incluyendo como referencia la variancia promedio de los 20 sublotes.

Carácter	Población	S ² promedio en 20 sublotes		Sublotes, variancias (S ²) y prueba de F.							
				9	10	15	18	20			
V2	Testigo	4.15	0.17		0.24		2.21		0.58		1.87
	Clones	11.85	48.58	285.76*	10.87	45.29*	45.67	20.67*	5.99	20.33*	51.80
V5	Testigo	0.0119	0.0006		0.0028		0.0014				
	Clones	0.0145	0.0054	9.00*	0.0306	10.93*	0.0162	11.57*			
V7	Testigo	0.84	0.04								
	Clones	0.72	0.55	13.75*							
V8	Testigo	0.73	0.17								
	Clones	0.93	2.73	16.06*							
V9	Testigo	0.90	0.10		0.32		0.06				
	Clones	1.07	1.60	16.00*	3.27	10.22*	0.86	14.33*			
V10	Testigo	0.0257	0.0012		0.0003		0.0003				
	Clones	0.0176	0.0921	76.75*	0.0468	156.00*	0.0033	11.00*			
V11	Testigo	0.09	0.01								
	Clones	0.11	0.19	19.00*							
V13	Testigo	1.91	0.27		0.17		0.07				
	Clones	1.84	3.74	13.85*	3.44	20.23*	0.66	9.43*			
V14	Testigo	3.86	0.69		0.57						
	Clones	5.58	15.19	22.01*	8.53	14.96*					
V15	Testigo	2.61	0.41		0.05		0.12				
	Clones	2.56	4.83	11.78*	0.90	18.00*	1.86	15.50*			

* Significancia al 0.05 de probabilidad.

plantas de probeta son similares a las conseguidas por semilla comercial y, por lo tanto, este sistema de propagación puede ser utilizado en los procesos de selección de híbridos, para la multiplicación de

variedades preseleccionadas, prometedoras y en propagación intensiva. La conservación de variedades en bancos *in vitro* es otra aplicación interesante de este sistema de propagación.

LITERATURA CITADA

1. AN, G.; COSTA, M.A.; MIIRA, A.; HA, S.B.; MARTON, L. 1988. Organ-specific and developmental regulation of the nopaline synthase promoter in transgenic tobacco plants. *Plant Physiology* 88:547-552.
2. CHEN, H.; GARILAND, W.K.M.A.; DAVEY, M.R.; SOTAK, R.; GARTLAND, J.S.; MULLIGAN, B.J.; POWER, J.B.; COCKING, E.C. 1982. Transformation of sugarcane protoplasts by direct uptake of a selectable chimeric gene. *Plant Cell Reports* 6:297-301.
3. CLARKE, M.A. 1984. Future research in the sugar industry. *Sugar y Azúcar* 79(10):38-39.
4. COCKING, E.C.; DAVEY, M.R. 1987. Gene transfer in cereals. *Science* 236:1259-1262.
5. FREY, N.M. 1988. An industry perspective on the benefits of and regulation of genetically engineered plants. *Journal of the Iowa Academy of Science* 95:24-26.
6. HORSCH, R.B.; KLEF, H.J.; STACHEL, S.; WIONANS, S.C.; NESTER, E.W.; ROGERS, S.G.; FRALEY, R.T. 1968. Analysis of *Agrobacterium tumefaciens* virulence mutants in leaf discs. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 83:2571-2575.
7. HORSCH, R.B.; KLEF, H.J.; HOFFMAN, N.L.; EICHHOLTZ, D.; ROGERS, S.G.; FRALEY, R.T. 1985. A simple and general method for transferring genes into plants. *Science* 227:1229-1231.
8. IMPA (INSTITUTO PARA EL MEJORAMIENTO DE LA PRODUCCION DE AZUCAR). 1983. Programa de variedades: Objetivos, importancia y metodología experimental. Córdoba, Méx., Centro Nacional de Investigaciones Azucareras.
9. KEESE, R.A. 1988. Impact of biotechnology on agriculture productivity. *Journal of the Iowa Academy of Science* 95:19-23.
10. KLEE, H.J.; YANOFSKY, M.F.; NESTER, E.W. 1985. Vectors for transformation of higher plants. *Biotechnology* 3:637-642.
11. KRESOVICH, S.; MCGEE, R.E.; DRAWE, H.G.; RIVERA, J.L. 1986. Variability of agronomic characters in populations of tissue culture-derived and vegetatively-propagated sugarcane. *In Congress International Society of Sugar Cane Technology (19). Proceedings. Indonesia.* p. 528-532.
12. LEFFINGWELL, R.J. 1985. Facts about sugar: New York reports. *Sugar y Azúcar* 80(3):4-5.
13. MAZZONE, J.S. 1985. Facts about sugar: Brazil exports high test molasses to the United States. *Sugar y Azúcar* 80(4):10-12.
14. MAZZONE, J.S. 1985. Facts about sugar: Brazil wants to increase alcohol exports to USA. *Sugar y Azúcar* 80(3):8.
15. MENDEZ, S.R.; CARRILLO-CASTAÑEDA, G. 1986. Cultivo *in vitro* de *Saccharum officinarum* L.: Influencia del estado de desdiferenciación sobre la potencialidad de rediferenciación. *Agrociencia* 65:147-151.
16. MILLIN, B.J. 1985. The genetic manipulation of crop plants. *In Molecular Biology and Biotechnology*. J.M. Walker, E.B. Gingold (Eds). London, The Royal Society of Chemistry. 135 p.
17. MILLER, J.D. 1982. Varieties and breeding. *In Inter-American Sugar Cane Seminar (3)*. Miami, Florida International University. p. 252-256.
18. PLOPER, D.L.; MARIOTTI, J.A. 1978. Variabilidad en subclones obtenidos de cultivos de tejidos en caña de azúcar. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán* 55:59-64.
19. SCHELL, J. 1987. Transgenic plants as tools to study the molecular organization of plant genes. *Science* 237:1176-1183.
20. SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. 1980. *Métodos estadísticos*. México, Compañía Editorial Continental. 703 p.
21. TEW, I.L. 1989. Biotecnología en evaluación de germoplasma y en mejoramiento genético de caña de azúcar. *Boletín GEPLACÉA* 6(6):1-4.

Arquitetura da Planta de Sorgo Tratado com Herbicidas¹

R. A. Rodella*

ABSTRACT

The effects of three herbicides (atrazine, alachlor and 2,4-D) on two cultivars of *Sorghum bicolor* (L.) Moench ("Contiouro" and "AG 1003") were studied comparatively in relation to plant architecture. Sorghum seeds were sown in pots and the following pre-emergence herbicides were applied: atrazine (1.50, 2.25, 3.00 l a.i./ha) and alachlor (1.93, 2.36, 2.79 l a.i./ha). Post-emergence treatment with 2,4-D was also made with the following doses: 0.36, 0.72, 1.08 l a.i./ha. Plant architecture was studied by diagrams relating leaf orientation on the culm. Sorghum cultivar AG 1003 had less inclined leaves than "Contiouro". Intermediate and high doses of herbicides promoted the occurrence of the least inclined leaves on cultivar "Contiouro". Cultivar AG 1003 showed a varied performance in relation to the employed herbicides.

RESUMO

Estudou-se comparativamente a arquitetura da planta de dois cultivares (Contiouro e AG 1003) de *Sorghum bicolor* (L.) Moench (sorgo granífero), tratados com atrazina, alaclora e 2,4-D. O ensaio foi realizado em vaso, aplicando-se os herbicidas em três diferentes doses do ingrediente ativo, sendo a atrazina (1.50, 2.35, 3.00 l/ha) e a alaclora (1.93, 2.36, 2.79 l/ha) aplicadas em pré-emergência, no 1o. dia após a semeadura, enquanto o 2,4-D (0.36, 0.72, 1.08 l/ha) foi aplicado em pós-emergência à cultura, no 14 dia após a semeadura. O estudo da arquitetura das plantas foi feito através de diagramas relativos à disposição das folhas no colmo, apresentando AG 1003 folhas menos pendentes que "Contiouro". As doses intermediária a maior dos herbicidas provocaram a ocorrência de folhas menos pendentes em "Contiouro", para AG 1003 houve resposta diferenciada de acordo com os herbicidas empregados.

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*, arquitetura da planta, ângulo foliar, morfologia.

INTRODUÇÃO

O conhecimento de características morfológicas, que resultam em uma determinada arquitetura das plantas cultivadas, é considerado de grande importância, principalmente, quando se pretende planejar melhores métodos de produção. Os componentes da arquitetura da planta podem ser modificados, no sentido de propiciar maior rendimento fotossintético à cultura, como têm ressaltados os pesquisadores em melhoramento vegetal. No milho, por exemplo, a utilização de híbridos com folhas erectas é uma tentativa para aumentar a quantidade de luz que atinge as folhas inferiores (10, 17).

Embora a importância do estudo da arquitetura da planta venha sendo salientada nos últimos anos, poucos foram os trabalhos (4, 11, 16) encontrados, neste sentido, com a cultura do sorgo. Na literatura consultada, não se encontraram referências aos efeitos de herbicidas sobre a arquitetura da planta de sorgo. De acordo com Fryer e Makepeace (6), o ângulo foliar pode influenciar a retenção e a interceptação dos herbicidas, pois uma folha mais pendente pode permitir um acúmulo do herbicida no ápice da lâmina foliar, enquanto uma folha vertical ou menos pendente pode causar o acúmulo do herbicida junto ao colmo.

A utilização frequente de alguns herbicidas, tem provocado efeitos prejudiciais na cultura do sorgo, ocasionando modificações morfológicas nas plantas (7, 8), pois o sorgo tem-se mostrado muito sensível à ação desses produtos. Assim sendo, realizou-se o presente trabalho com o objetivo de estudar comparativamente as características da arquitetura da planta de dois cultivares de sorgo granífero, tratados com doses crescentes de aplicação dos herbicidas atrazina, alaclora e 2,4-D.

¹ Recibido para publicación el 13 de diciembre de 1990.

* Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP). 18600 Botucatu, São Paulo, Bra.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado no Departamento de Botânica, do Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, utilizando-se os cultivares Contiouro e AG 1003 de *S. bicolor* (L.) Moench, semeados em vasos de 20 l de capacidade, contendo solo classificado como Latossolo Vermelho Escuro "intergrade" para Terra Roxa Estruturada, álico, textura média (1), apresentando 2.6% de matéria orgânica, sendo mantidos ao ar livre e irrigados diariamente.

Utilizou-se como adubação de semeadura quantidade equivalente a 100 kg N/ha, 340 kg de P₂O₅/ha e 200 kg K₂O/ha, sob a forma de sulfato de amônio, superfosfato triplo e cloreto de potássio, respectivamente. A adubação de cobertura foi realizada aos 35 dias após a semeadura, aplicando-se quantidade equivalente a 240 kg N/ha e 140 kg K₂O/ha.

Com auxílio de pulverizador costal, equipado com bico de jato cônico XI e consumo de calda de 20 ml/vaso, foram aplicados os herbicidas atrazina (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s-triazina) e alaclora (2-cloro-2',6'-dietil-N-(metoximetil) acetanilida) em pré-emergência à cultura, no 1o. dia após a semeadura, e 2,4-D (sal de dimetilamina do ácido 2,4-diclorofenoxiacético) em pós-emergência, no 14 dia após a semeadura, apresentando as plantas 20 cm de altura. Para a atrazina foram utilizadas as seguintes doses de aplicação: 3.0, 4.5, 6.0 l do produto comercial por hectare, correspondendo a 1.93, 2.36, 2.79 l ia/ha. Para o 2,4-D aplicaram-se as doses: 0.5, 1.0, 1.5, 1 pc/ha, correspondendo a 0.36, 0.72, 1.08 l ia/ha. Para a testemunha e em cada tratamento, foram utilizadas quatro repetições obedecendo-se ao delineamento de blocos casualizados.

Quadro 1. Valores médios dos comprimentos (cm) do colmo, do pedúnculo, da panícula e da altura (cm) de inserção de cada folha viva de cultivares de sorgo, tratados com diferentes doses de herbicidas.

Cultivares	Doses dos herbicidas (l pc/ha)	Comprimento do colmo	Comprimento do pedúnculo	Comprimento da panícula	Folhas vivas				
					1	2	3	4	5
Testemunha		53.7	20.2	18.0	53.7	32.6	27.4	24.9	23.2
	3.0	47.7	17.9	17.9	47.7	30.8	26.8	24.9	-
	4.5	46.0	15.5	16.5	46.0	32.3	27.0	25.0	-
Atrazina	6.0	45.8	14.6	15.6	45.8	29.5	24.8	22.5	-
	4.5	44.5	14.7	17.6	44.5	37.0	32.0	29.0	-
	5.5	44.1	14.1	17.0	44.1	20.0	16.0	14.0	-
Alaclora	6.5	43.9	13.1	10.5	43.9	37.0	31.5	28.0	-
	0.5	47.3	20.1	17.6	47.3	28.0	24.0	20.8	19.8
	1.0	46.2	20.0	17.3	46.2	28.8	23.3	22.6	21.5
2,4-D	1.5	46.0	19.0	17.5	46.0	30.5	25.8	23.8	22.7
	Testemunha	51.1	23.2	14.5	51.1	29.6	25.5	22.7	20.4
	3.0	46.2	23.0	13.6	46.2	25.7	21.5	19.7	18.4
Atrazina	4.5	46.5	22.6	13.4	46.5	28.0	22.5	19.8	18.6
	6.0	46.0	17.0	13.2	46.0	33.0	27.0	23.0	21.4
	4.5	51.0	14.0	14.8	51.0	43.3	37.3	29.8	-
Alaclora	5.5	51.5	8.2	14.5	51.5	43.5	36.8	31.5	-
	6.5	50.7	6.8	9.5	50.7	39.0	32.5	-	-
	0.5	48.5	23.3	14.2	48.5	30.0	24.3	20.0	19.1
2,4-D	1.0	47.8	22.3	14.4	47.8	37.9	29.9	25.5	20.8
	1.5	47.7	22.4	14.1	47.7	35.5	27.2	21.3	19.7

As mensurações referentes à arquitetura das plantas foram realizadas no final do ciclo da cultura (entre 97 e 99 dias após a semeadura), quando as plantas se encontravam no estágio de maturação dos grãos.

Para construção do diagrama representativo da arquitetura de cada cultivar, foram feitas medições em 2 plantas por repetição em cada tratamento. As medidas utilizadas na construção dos diagramas foram: comprimento do colmo, comprimento do pedúnculo, comprimento da panícula, altura de inserção das folhas vivas no colmo e ângulos foliares, bem como as distâncias que separam esses ângulos.

O comprimento do colmo foi medido entre a superfície do solo e a base do pedúnculo, na região do

colar da folha bandeira, correspondendo à altura de inserção da folha bandeira. O comprimento do pedúnculo foi medido desde sua base (na região do colar da folha bandeira) até o início da ráquis (na base da panícula). O comprimento da panícula foi medido desde o início da ráquis (na base da panícula) até o seu ápice.

A altura de inserção das folhas vivas no colmo foi medida desde a superfície do solo até o ponto de inserção de cada lâmina foliar, na região do colar da folha. A mensuração foi feita exclusivamente nas folhas funcionais, desprezando-se as que se encontravam secas na base do colmo. A folha bandeira recebeu a numeração 1, sendo, portanto, considerada como a 10.ª folha a partir do ápice do colmo.

Quadro 2 Valores médios dos ângulos do 1º, 2º e 3º terços da lâmina foliar e das distâncias (cm) entre eles, dos cultivares (Contiouro e AG 1003) de sorgo, tratados com diferentes doses de atrazina.

Doses de atrazina (1 pc/ha)	Terço da lâmina foliar	Folha 1		Folha 2		Folha 3		Folha 4		Folha 5	
		Ang.	Dist.	Ang.	Dist.	Ang.	Dist.	Ang.	Dist.	Ang.	Dist.
Contiouro Testemunha	1º	25º	6.1	38º	11.2	33º	15.1	35º	14.6	30º	13.5
	2º	61º	6.8	66º	9.2	61º	10.7	69º	12.0	76º	12.8
	3º	76º	4.4	100º	13.9	110º	15.8	122º	19.7	112º	17.5
3.0	1º	13º	10.0	28º	15.0	36º	16.0	30º	16.8		
	2º	38º	7.0	57º	9.8	73º	10.0	63º	13.8		
	3º	53º	6.3	94º	14.8	141º	19.3	107º	16.8		
4.5	1º	33º	6.3	51º	13.8	41º	14.3	37º	18.5		
	2º	73º	7.5	73º	10.3	56º	12.3	50º	13.0		
	3º	101º	8.3	109º	16.0	85º	18.5	93º	12.5		
6.0	1º	9º	8.5	31º	15.5	24º	17.0	45º	13.5		
	2º	33º	7.0	62º	10.5	47º	12.8	68º	15.0		
	3º	46º	4.5	110º	15.0	74º	16.3	117º	15.0		
AG 1003 Testemunha	1º	17º	7.6	24º	10.9	15º	15.6	18º	15.9	15º	21.5
	2º	42º	7.4	65º	7.9	37º	11.3	46º	14.6	34º	14.5
	3º	49º	2.9	121º	14.5	97º	12.0	96º	16.6	110º	13.2
3.0	1º	35º	5.0	19º	10.3	21º	16.0	22º	17.8	18º	17.8
	2º	98º	4.0	54º	6.8	54º	8.3	47º	13.5	40º	13.0
	3º	108º	4.8	88º	10.5	132º	13.8	115º	14.5	105º	13.3
4.5	1º	25º	5.8	18º	11.8	18º	16.8	17º	15.3	18º	16.0
	2º	66º	4.0	46º	9.5	67º	9.0	37º	14.5	55º	13.1
	3º	98º	5.3	101º	9.5	152º	14.5	81º	13.5	100º	12.5
6.0	1º	11º	8.3	25º	10.0	21º	17.0	22º	17.8	26º	15.8
	2º	18º	8.8	56º	5.8	46º	13.0	43º	10.8	44º	9.8
	3º	40º	9.0	94º	12.5	77º	13.3	130º	15.5	96º	15.0

Os ângulos foliares foram determinados a partir da vertical, em relação aos 1o, 2o e 3o terços da lâmina foliar, isto é, o ângulo de inserção de lâmina foliar no colmo e os ângulos dos terços médio e apical, bem como as distâncias que separam esses ângulos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através do Quadro 1, verifica-se que as testemunhas dos dois cultivares diferiram entre si, em relação aos comprimentos do colmo, do pedúnculo, da panícula, e da altura de inserção de cada folha viva, o que concorda com as observações de Costa (3), Martín (9), Rodella (16), Damasceno *et al.* (4), Eschie (5) e Cordeiro *et al.* (2). O cultivar AG 1003 apresentou menores comprimentos do colmo e da panícula e maior comprimento

do pedúnculo, revelando, possivelmente, ótimas características para a colheita mecânica, uma vez que a mesma é facilitada, de acordo com Cordeiro *et al.* (2), em plantas que possuem porte baixo e pedúnculo mais longo, com panícula bem separada da folha bandeira.

Doses crescentes de atrazina, alaclora e 2,4-D causaram diminuições nos comprimentos do colmo, do pedúnculo e da panícula, em ambos os cultivares (Quadro 1). As maiores reduções do comprimento do colmo foram ocasionadas pela alaclora e pela atrazina, nos cultivares Contiouro e AG 1003, respectivamente. Quanto ao comprimento do pedúnculo, os dois cultivares apresentaram sensíveis diminuições com a aplicação de alaclora, principalmente, nas doses intermediária e mais alta. Com relação ao comprimento da panícula, a dose mais alta de alaclora foi a que

Quadro 3. Valores médios dos ângulos do 1º, 2º e 3º terços da lâmina foliar e das distâncias (cm) entre eles, dos cultivares (Contiouro e AG 1003) de sorgo, tratados com diferentes doses de alaclora.

Doses de atrazina (1 pc/ha)	Terço da lâmina foliar	Folha 1		Folha 2		Folha 3		Folha 4		Folha 5	
		Ang.	Dist.	Ang.	Dist.	Ang.	Dist.	Ang.	Dist.	Ang.	Dist.
Contiouro Testemunha	1º	25º	6.1	38º	11.2	33º	15.1	35º	14.6	30º	13.5
	2º	61º	6.8	66º	9.2	61º	10.7	69º	12.0	76º	12.8
	3º	76º	4.4	100º	13.9	110º	15.8	122º	19.7	112º	17.5
4.5	1º	49º	11.3	60º	13.8	60º	17.3	58º	18.0		
	2º	89º	8.5	92º	16.0	100º	12.3	93º	14.0		
	3º	139º	18.0	145º	27.3	160º	23.0	143º	20.3		
5.5	1º	38º	10.0	25º	14.0	20º	15.5	28º	15.0		
	2º	55º	8.2	83º	12.7	84º	13.0	85º	13.0		
	3º	126º	14.0	139º	18.5	147º	17.5	144º	19.1		
6.5	1º	53º	11.5	54º	15.0	48º	14.0	38º	15.5		
	2º	102º	8.0	99º	14.5	87º	15.0	83º	16.0		
	3º	141º	13.5	142º	24.0	157º	24.0	150º	19.0		
AG 1003 Testemunha	1º	17º	7.6	24º	10.9	15º	15.6	18º	15.9	15º	21.5
	2º	42º	7.4	65º	7.9	37º	11.3	46º	14.6	34º	14.5
	3º	49º	2.9	121º	14.5	97º	14.8	96º	16.6	110º	13.2
4.5	1º	22º	12.3	28º	17.0	26º	22.8	24º	16.0		
	2º	45º	8.8	68º	15.0	61º	14.5	48º	16.3		
	3º	81º	11.8	120º	20.5	107º	15.0	93º	21.5		
5.5	1º	20º	10.3	26º	17.5	21º	19.0	23º	19.5		
	2º	50º	12.3	64º	13.3	44º	16.3	55º	20.8		
	3º	60º	8.5	143º	21.5	139º	27.3	135º	18.8		
6.5	1º	28º	18.0	29º	16.5	25º	18.5				
	2º	75º	10.0	60º	12.0	51º	13.5				
	3º	142º	12.5	134º	21.5	88º	18.5				

causou maior redução em ambos os cultivares. O número de folhas vivas no colmo foi reduzido, nos dois cultivares, pela aplicação de alaclora, enquanto que a atrazina causou diminuição apenas em "Contiouro".

A disposição das folhas na planta pode se estimada através dos valores médios dos ângulos do 1o, 2o e 3o. terços da lâmina foliar e das distâncias entre eles, para os dois cultivares tratados com diferentes doses de atrazina (Quadro 2), de alaclora (Quadro 3) e de 2,4-D (Quadro 4). Devido á ocorrência de grande variação dos ângulos foliares nos diversos tratamentos, análise foi baseada na comparação entre os menores valores dos ângulos das folhas vivas, sem considerar a posição por elas ocupada na planta. A testemunha de AG 1003 apresentou os menores ângulos para 1o, 2o e 3o. terços da lâmina foliar, em relação ao cultivar Contiouro.

Conclui-se que AG 1003, por possuir folhas menos pendentes, possibilita maior penetração de radiação solar em sua folhagem, ocasionando capacidade fotossintética maior em condições adequadas de cultivo, como já sugeriram Pearce *et al.* (12) Pendleton *et al.* (13, 14), Williams *et al.* (19), Mccree e Keener (11), Silva *et al.* (18), Rodella (16) e Damasceno *et al.* (4). Esta diversidade de ângulos foliares entre os cultivares de sorgo é bastante comum, como salientaram Quinby e Schertz (15).

Os menores ângulos para 1o, 2o e 3o. terços da lâmina foliar de "Contiouro" e de AG 1003 ocorreram com a dose mais alta de atrazina (Quadro 2). Nos tratamentos com alaclora (Quadro 3), a dose intermediária apresentou os menores ângulos para "Contiouro", enquanto que em AG 1003 foram obser-

Quadro 4. Valores médios dos ângulos do 1°, 2° e 3° terços da lâmina foliar e das distâncias (cm) entre eles, dos cultivares (Contiouro e AG 1003) de sorgo, tratados com diferentes doses de 2.4-D.

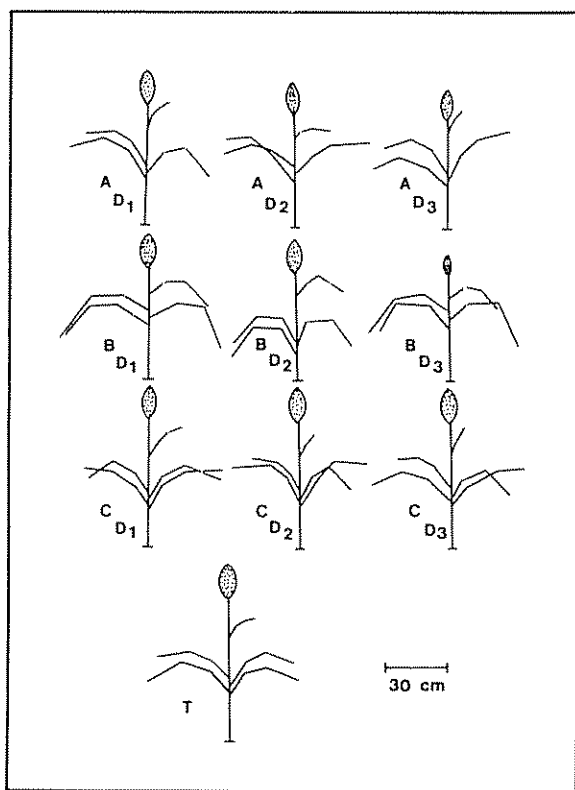
Doses de atrazina (1 pc/ha)	Terço da lâmina foliar	Folha 1		Folha 2		Folha 3		Folha 4		Folha 5	
		Ang.	Dist.	Ang.	Dist.	Ang.	Dist.	Ang.	Dist.	Ang.	Dist.
Contiouro Testemunha	1°	25°	6.1	38°	11.2	33°	15.1	35°	14.6	30°	13.5
	2°	61°	6.8	66°	9.2	61°	10.7	69°	12.0	76°	12.8
	3°	76°	4.4	100°	13.9	110°	15.8	122°	19.7	112°	17.5
0.5	1°	29°	10.5	33°	13.8	27°	14.5	32°	13.0	25°	13.0
	2°	45°	6.3	61°	10.8	61°	13.8	56°	13.3	57°	15.1
	3°	70°	6.8	125°	16.5	113°	17.5	84°	11.5	87°	16.5
1.0	1°	23°	8.8	24°	10.5	25°	15.8	25°	15.8	34°	18.5
	2°	43°	7.3	47°	9.0	55°	10.5	48°	9.8	44°	11.5
	3°	51°	1.3	81°	11.3	138°	16.0	94°	19.0	94°	15.8
1.5	1°	12°	7.8	35°	15.0	31°	11.0	46°	17.3	42°	12.0
	2°	29°	6.3	63°	8.5	65°	13.8	74°	12.5	61°	18.5
	3°	33°	4.3	96°	10.0	136°	18.0	114°	17.0	85°	13.0
AG 1003 Testemunha	1°	17°	7.6	24°	10.9	15°	15.6	18°	15.9	15°	21.5
	2°	42°	7.4	65°	7.9	37°	11.3	46°	14.6	34°	14.5
	3°	49°	2.9	121°	14.5	97°	14.8	96°	16.6	110°	13.2
0.5	1°	10°	6.3	23°	7.8	15°	14.3	12°	19.5	12°	21.5
	2°	33°	5.3	57°	7.8	41°	8.0	32°	10.5	30°	13.8
	3°	37°	3.5	102°	10.0	83°	11.0	117°	13.5	109°	16.5
1.0	1°	37°	7.0	26°	11.8	22°	13.3	16°	17.3	18°	22.0
	2°	80°	5.8	51°	9.8	63°	11.5	44°	14.5	47°	13.0
	3°	103°	5.8	92°	13.5	146°	20.8	105°	18.5	82°	13.5
1.5	1°	28°	6.3	31°	9.8	23°	13.3	14°	17.5	16°	19.3
	2°	41°	6.5	67°	8.0	49°	9.5	41°	13.0	44°	13.8
	3°	49°	2.3	93°	9.5	96°	11.3	139°	16.3	133°	18.8

vados na testemunha. Nos tratamentos com 2,4-D (Quadro 4), menores ângulos para 1o., 2o e 3o. terços da lâmina foliar foram constatados com a aplicação das doses mais alta e mais baixa, respectivamente, nos cultivares Contiouro e AG 1003. A mensuração de todos os ângulos formados nas folhas é adequada para identificar quais as posições da lâmina que realmente explicam as diferenças de arquitetura foliar nos tratamentos estudados, como evidenciaram Silva *et al.* (18). A medição de apenas o ângulo de inserção (1o. terço) da lâmina foliar no colmo torna mais difícil caracterizar as variações na arquitetura da planta (14).

Com base nos dados dos Quadros 1 a 4 e para dar uma idéia da arquitetura das plantas, foram construídos os diagramas (Figs. 1 e 2) para os dois cultivares submetidos aos tratamentos com atrazina, alaclora e 2,4-D. "Contiouro" (Fig. 1) apresentou folhas menos pendentes, na dose mais alta de atrazina, e folhas mais

pendentes na dose intermediária, enquanto que AG 1003 (Fig. 2) apresentou folhas menos pendentes também na maior dose de atrazina e mais pendentes na dose mais baixa do referido herbicida.

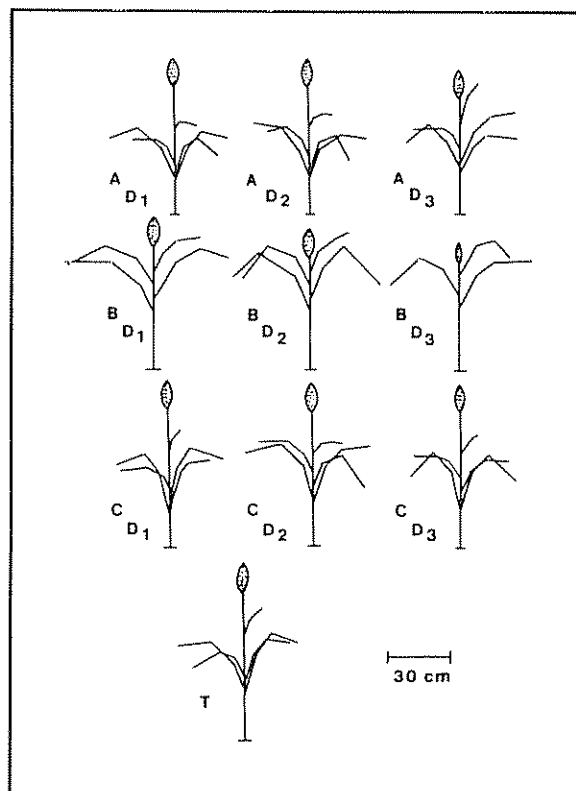
As doses intermediária e menor de alaclora promoveram a ocorrência, respectivamente, de folhas menos pendentes e mais pendentes em "Contiouro" (Fig. 1), enquanto que AG 1003 (Fig. 2) apresentou folhas menos pendentes na testemunha e na dose intermediária, e folhas mais pendentes na maior dose deste herbicida. "Contiouro" (Fig. 1), tratado com as doses intermediária e maior de 2,4-D, apresentou folhas menos pendentes, enquanto que a testemunha e a menor dose deste herbicida apresentaram folhas mais pendentes; por outro lado, AG 1003 (Fig. 2) apresentou folhas menos pendentes e mais pendentes nas doses menor e intermediária de 2,4-D, respectivamente.



Leyenda:

A: Atrazina, B: Alaclora, C: 2,4-D, T: Testemunha, D1: Dose menor, D2: Dose intermediária, D3: Dose maior.

Fig. 1. Diagramas representativos da arquitetura de plantas de sorgo, cultivar Contiouro, no final do ciclo de desenvolvimento da cultura, tratado com diferentes doses de herbicidas



Leyenda:

A: Atrazina, B: Alaclora, C: 2,4-D, T: Testemunha, D1: Dose menor, D2: Dose intermediária, D3: Dose maior.

Fig. 2. Diagramas representativos da arquitetura de plantas de sorgo, cultivar AG 1003, no final do ciclo de desenvolvimento da cultura, tratado com diferentes doses de herbicidas

Portanto, pode-se verificar que, para "Contiouro", houve certa correspondência entre a ocorrência de folhas menos pendentes e a aplicação das doses intermediária e maior de herbicidas, bem como entre a ocorrência de folhas mais pendentes e a aplicação das doses intermediária e menor de herbicidas. Entretanto, para o cultivar AG 1003 houve resposta diferenciada de acordo com os herbicidas empregados, não se podendo estabelecer um padrão de correspondência como para o cultivar Contiouro.

LITERATURA CITADA

1. CARVALHO, W.A.; ESPINDOLA, C.R.; PACCOLA, A.A. 1983. Levantamento de solos da Fazenda Lageado (Estação Experimental "Presidente Médici"). Bolm. Cient. Univ. Est. Paul. Fac. Cienc. Agron. 1:1-95
2. CORDEIRO, D.S.; KICHEL, A.N.; PORTO, V.H.F.; SILVEIRA JUNIOR, P. 1984. Efeito de doses de nitrogênio no comprimento do pedúnculo de três híbridos de sorgo granífero. Agronomia Sulriograndense (Bra.) 20 (1):203-207.
3. COSTA, O.M.M. 1973. Estudos botânicos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). Agronomia Sulriograndense 9(2):162-169.
4. DAMASCENO, M.C.M.; RODELLA, R.A.; ANDRADE, V.M.M.; PAVANI, L.C. 1983. Características da arquitetura da planta de cultivares de *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Científica 11(2):261-267.
5. ESECHIE, H.A. 1983. Relationship between lodging, certain morphological characters and yield of grain sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). Journal of Agricultural Science 101(3):669-673.
6. FRYER, J.F.; MAKEPEACE, R.J. 1977. Weed control handbook I. Principles including plant growth regulators. 6 ed. Oxford, Blackwell. 510 p.
7. HICKEY, J.S.; KRUEGER, W.A. 1974. Alachlor and 1,8-naphthalic anhydride effects on sorghum seedling development. Weed Science 22(1):86-90.
8. MARSHALL, R.J.; NEL, P.C. 1980. Study of atrazine phytotoxicity to sorghum by split root technique. Crop Production 9:141-143.
9. MARTIN, J.H. 1975. Historia y clasificación de los sorgos (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). In Producción y usos del sorgo. J.S. Wall, W.M. Ross (Coords). Buenos Aires, Hemisferio Sur. p. 3-18.
10. MASON, L.; ZUBER, M.S. 1976. Diallel analysis of maize for leaf angle, leaf area, yield, and yield components. Crop Science 16(5):693-696.
11. McCRIE, K.J.; KEENER, M.E. 1974. Simulations of the photosynthetic rates of three selections of grain sorghum with extreme leaf angles. Crop Science 14(4):584-587.
12. PEARCE, R.B.; BROWN, R.H.; BLASER, R.E. 1967. Photosynthesis in plant communities as influenced by leaf angle. Crop Science 7(4):321-324.
13. PENDLETON, J.W.; EGLI, D.B.; PETERS, D.B. 1967. Response of *Zea mays* L. to a "light rich" field environment. Agronomy Journal 59(5):395-397.
14. PENDLETON, J.W.; SMITH, G.E.; WINTER, S.R.; JOHNSTON, T.J. 1968. Field investigations of the relationships of leaf angle in corn (*Zea mays* L.) to grains yield and apparent photosynthesis. Agronomy Journal 60(4):422-424.
15. QUINBY, J.R.; SCHERTZ, K.F. 1975. Genética, fitotecnia y producción de semilla de sorgo híbrido. In Producción y usos del Sorgo. J.S. Wall, W.M. Ross (Coords). Buenos Aires, Hemisferio Sur. p. 43-67.
16. RODELLA, R.A. 1980. Características da anatomia foliar, arquitetura da planta e fenologia e cultivares de *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Tese Mestrado. Jaboticabal, UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 150 p.
17. RUSSELL, W.A. 1972. Effect of leaf angle on hybrid performance in maize (*Zea mays* L.). Crop Science 12(1):90-92.
18. SILVA, W.J.; HIRATO, H.; MEDINA, D.M.; LONGO, R.S. 1976. Características anatômicas e morfológicas do novo cultivar de milho Erecta. Ciência e Cultura 28(6):657-664.
19. WILLIAMS, W.A.; LOOMIS, R.S.; DUNCAN, W.G.; DOVRAT, A.; NÚÑEZ, A.F. 1968. Canopy architecture at various populations densities and the growth and grain yield of corn. Crop Science 8(3):303-308.

Effects of Micronutrient Fertilization on Jonathan Apples in Guatemala¹

W.T. Williams, V.M. de Del Aguila*,
S. Cifuentes*, R. Pérez**

ABSTRACT

Enhanced vegetative vigor of Jonathan apples was observed as a result of micronutrient foliar applications over a two-year period. Increased branch length, diameter and number of buds was observed from all three stories in an espaliered orchard. Trunk size also increased after two years of treatments compared to controls. This increase in photosynthetic tissue and bearing wood is interpreted as beneficial for tree health and fruit production potential. During the two harvest study periods, there was no consistent difference between micronutrient-treated trees and controls for: number of fruits per tree; gross weight of fruits per tree; flesh firmness; intensity of apple scab; hail damage; nor incidence and severity of fruit russetting. In 1989 there was a beneficial effect of micronutrients on fruit weight and the incidence of apple scab, but not in 1990. Fruit pigmentation decreased in the micronutrient trees in 1989, but was equal to controls in 1990. The integrated horticultural practices performed during the experiment appeared to enhance most production variables, including fruit color. The yields and fruit quality of nearby Jonathan orchards in the Quetzaltenango, Guatemala area could be easily enhanced by following this proven method.

INTRODUCTION

Very little is known about nutrient requirements for apples in Guatemala. ICTA, the government Institute for Agricultural Science and Technology, initiated studies on NPK fertilizer requirements for apples in 1986, but no definitive recommendations have resulted from this effort (5). Likewise, a micronutrient study initiated by ICTA in 1990 (9) failed to show verifiable results from micronutrient applications, probably due to insufficient degrees of freedom (too small of a population chosen) and because primary vegetative growth factors which might have revealed treatment effects (3, 6, 7) were not measured.

COMPENDIO

Se observó aumento en el vigor vegetativo de la manzana Jonathan como resultado de las aplicaciones foliares de micronutrientes durante dos años. Se determinó el incremento en el crecimiento de rama, diámetro y número de yemas en los tres diferentes pisos en un huerto en espaldera. El tamaño del tronco también se elevó después de dos años de tratamientos en comparación con los testigos. Durante las cosechas de este período, no hubo una diferencia significativa entre los árboles tratados con micronutrientes y los testigos en el número de frutos por árbol; el peso bruto de frutos por árbol; el diámetro de fruto; los grados Brix (porcentaje de sólidos solubles); la firmeza de la carne; la intensidad de sarna; el daño por granizo, ni en la incidencia y severidad de la sarna. En 1989, el efecto de micronutrientes fue beneficioso en el peso unitario y en la incidencia de sarna, pero no durante 1990. La pigmentación de la fruta disminuyó en los árboles con micronutrientes en 1989, sin embargo, fue similar a la de los testigos en 1990. Las prácticas integradas de manejo, aparentemente mejoraron la mayoría de variables de producción como el color del fruto. El rendimiento y la calidad de fruta en los huertos de Jonathan, en el área de Quetzaltenango, podrían ser mejorados fácilmente si se sigue el método probado en este trabajo.

Immediate growth responses in apples to foliar micronutrient fertilization would be expected to be vegetative in nature. Increased chlorophyll and other pigment synthesis (darker-green leaves and more intensely pigmented red fruits), more and larger leaves, greater annual stem length and diameters, more buds and greater bole diameter would be expected as verifiable parameters to fertilization treatments (1, 7). Fruit spur formation and consequent increased numbers of flowers and fruit production would be expected to occur only in subsequent years as a normal delayed response to invigorated vegetative organs. Due to annual variations in growth responses of most apple varieties, a large population would have to be tested to be able to discern differences in treatment effects of micronutrients.

Because the majority of orchard soils in Guatemala have not been tested quantitatively for soil fertility, only generalities can be assumed as to nutritional status. Most orchard soils in the Quetzaltenango Valley are

¹ Received for publication 26 May 1992

* United States Agency for International Development (USAID), Gua., RADO/ROCAP Unit 3324 APO AA 34024 USA

fertile, acidic, of sedimentary nature from volcanic activity or alluvium, highly mineralized, and low in organic material and nitrogen (10). Boron, magnesium and nitrogen deficiencies have been observed and suspected (5, 11, 12).

Since apple yields are generally low in Guatemala, the United States Agency for International Development (USAID) initiated a cooperative research and extension program between 1984-1990 with the Guatemala Ministry of Agriculture to improve the cultivation of deciduous fruits (5, 11, 13). An experiment in micronutrient fertilization via foliar application on Jonathan apples was considered important as a component of integrated cultural practices. Because espaliered orchards yield heavily per unit area (2, 4) and because most Guatemalan farms in the highlands are small, an espaliered Jonathan orchard was selected for study.

METHODS AND MATERIALS

In an effort to improve the experiments of the Institute of Agricultural Science and Technology (ICTA) of the Guatemalan Ministry of Agriculture, it was mutually agreed to expand their on-going micronutrient studies by treating an espaliered block of Jonathan apples at Labor Vieja-DIGESA in La Esperanza, Quetzaltenango. This block was planted in 1982 and is comparable to the espaliered block of apple varieties reported by Santizo and Vasquez (9) in nearby Salcaja. The Labor Vieja block consists of seven east-west planted rows of trees, each with a different planting density (Table 1). Distance between rows is 2 m. MM106 is the rootstock. The block was divided into two equal halves at random, with and without foliar application of micronutrients. An integrated management procedure was followed consisting of pruning, fertilization, pest control, and fruit thinning. On March 27 and 28, 1989, the block was pruned.

The circumferences of the trunks at approximately 15 cm above ground were then measured. Additional trunk measurements were made after the growing seasons in 1989 and 1990 following natural defoliation. Annual branch growth for 1989 and 1990 was measured by harvesting the dominant new vertical leader from each of the three stories from each tree in the block. Length was measured from the tip of the terminal bud to the annual ring scar (Table 2). Each year during the growing season, complete micronutrient brand Agrico (Agrico Miconutrients were used on an experimental basis only, and use of this product is not a specific recommendation thereof) was applied four times with a motorized spray unit at a dose of 150 cc/15 l of water (4-gallon spray rig). The

Table 1. Some dimensions of espaliered block of Jonathan apples at Labor Vieja, DIGESA, Quetzaltenango.

	Mean planting density (cm)	Trees (no.)	
		Control	Micron.
Row 1	130	16	17
Row 2	151	13	13
Row 3	176	14	11
Row 4	200	8	11
Row 5	228	8	10
Row 6	236	7	11
Row 7	282	6	6
Total		72	79

micronutrient salts were chelated with hydrolyzed protein. All fruit was thinned to three or fewer fruits per spur before the fruit size exceeded 1 cm (12). All trees were green-pruned. Other management practices included regular insect and disease control schedules with pesticides and fertilization with NPK 15-15-15. The full integrated management schedule for 1989 and 1990 is listed in Table 3. Both blocks were treated equally except for the micronutrient applications.

Table 2. Contents of Agrico* micronutrient solution applied during experiment (ppm/liter).

Nutrient	(ppm)	Chemical form applied
Calcium	600	Calcium sulfate
Copper	1 900	Copper sulfate
Iron	1 800	Ferrous sulfate
Magnesium	3 000	Magnesium sulfate
Manganese	650	Manganese sulfate
Zinc	4 200	Zinc sulfate
Boron	2 800	Sodium borate

* Traces of Cl, Na, Co, S

Harvest of commercial sizes in 1989 started on 16 August. This first harvest was purely that of wind-fallen fruit. All fruit was retrieved to determine final biomass.

Other harvests occurred on 28 August, 4 September, 11 September, 18 September, 2 October, 16 October, and 23 October. In 1990, the harvest times were earlier (Table 3). Harvests continued until all fruits were picked. Thus, this study represents a total fruit biomass determination as well as commercial harvest. All fruit

of commercial size and quality was harvested from each half-row during each picking including windfalls that had not rotted. On the final harvest all remaining fruit was removed.

Gross row weight and number of fruits were immediately determined and a subsample was drawn of 25 fruits per treatment per row at random. For the 25 fruits, individual weight, diameter, percent of infection by apple scab, intensity of scab per fruit (%), pigmentation (%), and intensity of russetting (%) were determined. From the 25-fruit subsample, the three best fruits were chosen and two determinations were made on fruit hardness (1 cm diameter penetrometer head used) and one Brix reading (% soluble sugars) per fruit. For fruit pulp hardness, on two opposite tangential sides of each fruit a shallow cap was removed from the epidermis with a knife, and the penetrometer pressed perpendicular into the flesh until tissue collapse occurred. From pieces of flesh extracted from the two openings, samples of juice were expressed and Brix was determined with an American Optical Instrument Co. hand refractometer. The MSTAT microcomputer statistical analysis program (8) was used for comparing significance levels of the various test parameters.

Certain sources of error are recognized *a priori*, including: a) the least dense row was partially shaded by a nearby block of peaches and plums; b) more than a dozen different pickers harvested the fruit during the harvests, which could have resulted in fruits being harvested of different sizes; c) two rows of seedling peaches were planted by DIGESA personnel between each row of trees in 1989, and may have somewhat affected the expression of density plantings; and d) during the two years, seven trees in the block, two from the micronutrient half and five in the controls, died from *Phytophthora-Cytospora* canker complex. This mortality could have affected results.

RESULTS AND DISCUSSION

Vegetative growth

Branch dimensions and bud production. The top-story branches in the espaliered block were longer than the lower stories, as expected (Table 4). The branch diameters of the upper stories were also significantly greater, and more buds per branch were produced in the upper story. This pattern was the same regardless of treatment.

For the three vegetative growth parameters, there were highly significant differences between micronutrient-treated trees and the controls, with mean combined branch length being 67.7 cm for

Table 3. Schedule for apple management at DIGESA, Labor Vieja, Quetzaltenango, Gua.

Practice	1989	1990
Dormant pruning	27-28 March	29 March
Fertilization	12 July 2 lbs. 15-15-15 per tree	26 March 1 lb. 15-15-15 per tree
Cultivation	30 May	June
Fruit thinning	26-27 May	19 April
Pest control	15 May - Dithane * 9 June-Oleofolido! + Manzate, Benlate 11 July - Benlate 11 August-Benlate	2 April-Ridomil 10 April-Nemacur + Cupravit 10 May-Baycor 10 May-Baycor + Difolatan 20 July-Ridomil + Benlate
Green pruning	8 June	7 August
Micronutrient	11 May 11 June 11 July 11 August	10 April 10 May 11 June 20 July
Harvest	16 August 28 August 4 September 11 September 18 September 2 October 16 October 23 October	26 June 13 August 28 August 10 September 21 September 3 October

* Mention of pesticide is not an endorsement for use.

micronutrient versus 36.7 cm in controls, an increase of 46%. New branch diameter increased by some 20% (0.66 cm relative to .52 cm), and the number of buds per branch increased some 67% (27 versus 18 per branch).

Trunk circumferences. After one year, there did not appear to be any relationship between trunk circumference and micronutrient treatments. However, by the end of the second year, micronutrient-treated trunk circumferences had increased significantly in size compared to control trunks (Table 5). The increase was 1.4 cm for treated trees over the two-year period versus 0.57 cm for controls, with respective mean circumferences being 18.9 cm for control trees and 19.8 cm for micronutrients at the end of the second growing

Table 4. Vegetative growth (cm) in response to micronutrient treatments in an espaliered Jonathan apple orchard in Quetzaltenango, Gua.

Variable		Micronutrient	Probability Ho	Control
		$\bar{x} \pm SE^*$		$\bar{x} \pm SE$
Branch length (Lowest wire)	p-1	60.3 \pm 2.3	0.00	35.0 \pm 1.67
Branch length (Middle wire)	p-2	66.6 \pm 4.1	0.00	31.0 \pm 1.42
Branch length (Top wire)	p-3	76.2 \pm 3.5	0.00	44.1 \pm 2.76
Branch diameter	p-1	0.58 \pm .01	0.00	0.50 \pm .01
Branch diameter	p-2	0.63 \pm .02	0.00	0.48 \pm .01
Branch diameter	p-3	0.76 \pm .03	0.00	0.59 \pm .02
No. buds/branch	p-1	23.0 \pm .67	0.00	16.5 \pm .54
No. buds/branch	p-2	26.6 \pm 1.31	0.00	15.9 \pm .54
No. buds/branch	p-3	31.3 \pm 1.03	0.00	22.0 \pm .85

* SE is the Standard Error of the Mean

Table 5. Trunk circumferences (cm) in Jonathan apples as affected by micronutrients (1989-1990 in Quetzaltenango, Gua).

Circumference 1989 Spring		Circum 1990a Spring		Circum 1990b Winter		Growth 1989-1990	
Control	Micron.	Control	Micron.	Control	Micron.	Control	Micron.
Row 1							
15.6	16.2	16.3	16.4	16.8	17.3	1.14	1.10
Row 2							
18.6	17.9	18.5	18.6	17.5	18.4	-1.10	0.52
Row 3							
18.6	18.8	19.5	19.5	18.0	19.9	-0.60	1.08
Row 4							
18.0	18.7	18.4	19.2	19.0	19.8	1.00	1.06
Row 5							
18.5	17.3	19.8	18.7	19.1	19.0	0.62	1.68
Row 6							
18.2	19.4	19.1	19.5	18.8	20.0	0.56	0.60
Row 7							
22.4	22.0	23.2	22.6	24.2	24.4	1.80	2.38

season in 1990. Paired t-tests with six degrees of freedom produced t values of 3.01 for trunk diameters, and 2.8 for accumulative growth, compared with the critical t value at 0.05 probability level of 2.447 (8).

This enhancement of vegetative vigor is important for sustained plant health and subsequent fruit production. The increased photosynthetic tissue, which was an obvious visual reaction to the micronutrient treatment, both in terms of more and darker green leaves, should produce a multitude of benefits for the producer, including better control of apple scab and other maladies. Healthy, vigorous trees tend to produce more fruit spurs, stronger flowers and augmented harvests than less thrifty trees. This physiological reaction is a benefit to the farming community and the general economy.

In 1989, there were seven harvests between 16 August and 23 October, and in 1990 there were six harvests between 26 June and 3 October (Table 3). 1990 was an earlier year for Jonathan apples, probably due to early rains in March and April. Multiple harvests are normal in apples, especially in Guatemala where several waves of flowering occur due to the lack of sufficient cold hours (14). Not all buds have an equal level of dormancy, and therefore the fruit does not mature at the same time, requiring multiple harvests.

The main harvest in 1989 was on 4 September, with a gross weight per tree of only 3.2 kg (Fig. 1). In 1990 the main harvest date was 28 August with a mean yield of 21 kg per tree (Fig. 2). Figure 2 shows the yields at different harvest times for 1990.

The 1990 harvest yielded 46.7 more apples per tree than the 1989 harvest (Table 6). This may be normal in the regular cycle of bearing for Jonathans. 1989 generally produced a lighter crop than 1990 in the

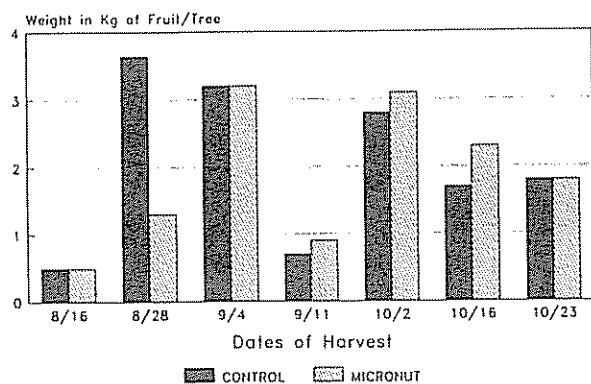


Fig. 1. Weight (kg) of fruits per tree for seven harvests in 1989 of Jonathan apples under espaliered conditions at Labor Vieja, Quezaltenango, Gua

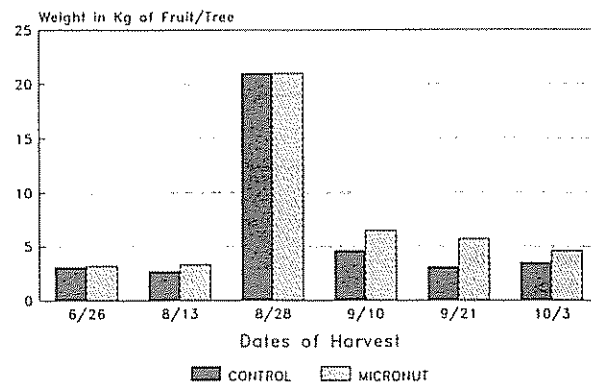


Fig. 2. Weight (kg) of fruits per tree for six harvests in 1990 of Jonathan apples under espaliered conditions at Labor Vieja, Quezaltenango, Gua

Quetzaltenango Valley. Nothing has been reported concerning normal fluctuations of apple yields in Guatemala. However, we believe that our intensive integrated management activities are partially responsible for the observed improvements in 1990. If 1989 and 1990 represent usual variation in the measured parameters, this report can serve as a basis of comparison for other espaliered and traditional orchards, since the crop in 1990 can be considered as excellent in terms of gross weight and quality for the variety Jonathan. Trees in 1990 produced 25% more apples than in 1989 (Table 6). Gross weight in 1990 was 67% greater than 1989. Unit weight of fruits was also greater in 1990 by about 8%.

In 1989, individual fruit weight in micronutrient-applied trees was greater than controls, but there was no significant difference between treatments in 1990 (Table 6). Fruit diameter was 26% greater in 1990 than 1989, probably an accumulative reaction due to fruit thinning. For these two years, the mean fruit diameter was 5.3 cm. Fruit surface coloration in 1989 was greater in control trees, but in 1990 there was no significant difference. Fruit coloration was more intense in 1990 than 1989 by some 15.6%. This was most likely due to the green pruning right after the first harvest, which permitted better light penetration to remaining fruit within the canopy. The green pruning in 1989 was earlier and new leaves probably reshaded the crop, inhibiting pigment formation.

In both years, there was no significant difference in degrees of Brix or flesh firmness at harvest time, with a combined mean of 12.1 Brix. 1990 had 5% more soluble sugars (Brix) than 1989, probably due to green pruning.

Table 6. Effects of micronutrients on espaliered Jonathan apples for 1989 and 1990 at Quetzaltenango, Gua.

Variable	1989		1990		1989-1990 Averages
	Micron.	Control	Micron.	Control	
No. fruits/tree	108.1 n.s.	118.9	165.4 n.s.	139	132.8
Gross weight of fruits/tree (kg)	9.23 n.s.	10.0	30.4 n.s.	27.4	19.3
Unit fruit weight (g)	99.5* (0.5)	91.2	141.7 n.s.	138.4	99
Fruit diameter (cm)	4.6 n.s.	4.5	6.24 n.s.	6.03	5.3
Surface pigmentation (%)	45.1* (0.2)	48.2	62.7 n.s.	61.9	54.5
Degrees Brix	11.6 n.s.	11.9	12.2 n.s.	12.6	12.1
Flesh firmness (kg/cm ²)	10.3 n.s.	10.4	10.3 n.s.	10.5	10.4
Incidence of apple scab (%)	33.5* (0.05)	48.8	31.7 n.s.	34.9	37.3
Intensity apple scab (%)	11.7 n.s.	14.5	12.9 n.s.	10.1	12.2
Incidence hail damage (%)	32.4 n.s.	24.3	—	—	—
Russetting (%)	34.7 n.s.	36.5	40.3 n.s.	34.5	36.5
Intensity of russetting (%)	11.1 n.s.	11.7	8.8 n.s.	9.1	10.2

* = Significant differences at (0 X) level of probability.
n.s. = no significant difference

Apple scab (*Venturia inaequalis*) appeared to be less in 1990 compared to 1989 (Table 6) i.e., 41.2% versus 33.3%, respectively, for fruits infected. For infected fruits, however, the intensity of scab was similar, with a two-year mean of 12.2% blemished epidermis in affected fruit. In 1989, the micronutrient treatment had significantly less apple scab than controls (33.5% versus 48.8%), but there was no significant difference in the treatments in 1990 (31.7% versus 34.9% respectively for micronutrient/control). 1990 was conducive to apple scab in the highlands, but it is thought that the observed reduction in scab incidence was due to the integrated management practices. Perhaps the reduced amount of foliage after green pruning permitted easier penetration of the fungicides into the canopy, and the leaves dried faster after the daily afternoon rains. Another disease, basal trunk canker (*Salcaja* disease), probably caused by *Cytospora leucostoma*, killed seven trees in the experimental orchard from 1989-1990, an annual mortality of 2.3%. Five of the killed trees were in the control block.

Hail damage is an intermittent climatic factor reducing fruit quality in the highlands. In 1989, 28.4% of the fruit had hail damage, but in 1990 no hail damage occurred.

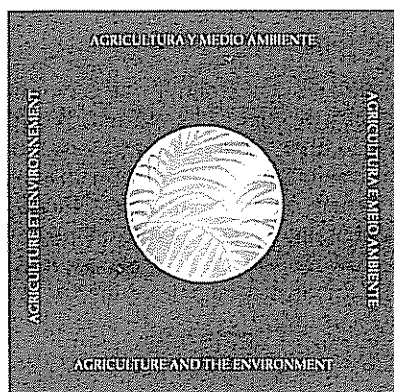
Skin russetting remains a chronic problem for apple quality, especially on Red Delicious and Wealthy apples (12). In the Labor Vieja Jonathan block, 36.5% of the apples were russetted in 1989-1990, with about 10% of the fruit surface being blemished. This level of russetting is maximally acceptable in establishing norms of quality for top grade fruit, so it is not a problem under this management regime for Jonathan apples.

LITERATURE CITED

1. ABBOT, D. L. 1984. The apple tree: Physiology and management. University of Bristol, Long Ashton Research Station, Grower Books. 90 p.

2. EMPASC 1986 Manual da cultura da macieira Florianopolis, S.C., Bra 652 p
3. EPSTEIN, E. 1972 Mineral nutrition of plants: Principles and perspectives New York, John Wiley. 412 p
4. HOUGH, R.; KELLY, J.; MILLER, S.; DEROSSIER, R.; MANN, F. L.; SELIGSON, M. A. 1982 Tierra y trabajo en Guatemala: Una evaluación. Washington, AID, Development Associates 214 p
5. ICTA (INSTITUTE OF AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY). 1989 Informes anuales. Quetzaltenango, Gua., ICTA, Región VI, Labor Ovalle, Programa de Frutales
6. KRAMER, P. J.; KOZLOWSKI, I. T. 1979 Physiology of woody plants Orlando, FL., Academic Press 811 p
7. MICRONUTRIENTES EN AGRICULTURA. 1983. J.J. Mortvedt, P.M. Giordano, W.L. Lindsay (Eds.). Méx., AGT Editor 742 p
8. MSTAI. 1986. A microcomputer program for the design, management and analysis of agronomic research experiments; Version 4.0 Michigan State, University and Agricultural University of Norway.
9. SANTIZO, L. E.; VASQUEZ, J. 1990. Efectos de la aplicación de dos fertilizantes foliares en la producción y calidad de manzana (*Malus pumila* Mill.) variedad Jonathan, en sistema de palmeta. Quetzaltenango, ICTA, Región III, Labor Ovalle, Programa de Frutales Deciduos p. 230-251
10. SIMONS, C. S. 1959. Clasificación de reconocimiento de los suelos de la República de Guatemala, Gua., José de Pineda Ibarra. 1000 p
11. WILLIAMS, W. I.; MENEGAZZO, G. 1988 Apple culture in the highlands of Guatemala. Acta Horticulturae 232:57-66.
12. WILLIAMS, W. I.; MENEGAZZO, G.; CIFUENTES, S. E.; DEL AGUILA, V. DE 1990. Notas de fruticultura. 2 ed. Quetzaltenango, Gua., Programa de Desarrollo Agrícola USAID - MAGA, Proyecto 520-0274. 186 p
13. WILLIAMS, W. I. 1990. Informe anual: Producción/promoción de frutales deciduos. USAID/PDA 520-0274. 17 p Annexes
14. WILLIAMS, W. I.; FAX TZOC, B. A. 1990. Preliminary observations on the effects of hydrogen cyanamide on breaking dormancy and harvest of apples in Guatemala. Acta Horticulturae 279:399-408.

LIBRO RECOMENDADO



US\$20.00

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

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

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

Avaliação do Sistema de Consórcio de Substituição de Girassol e Soja com e sem Dessecação Química¹

P.R. Ferreira da Silva*, C.M. Mundstock**,
J.A. Costa***, A. Lima Nepomuceno****

ABSTRACT

A field trial was carried out at Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul State, Brazil, to compare plant arrangement systems of soybeans in relay intercropping with sunflower, at physiological maturity, with and without chemical desiccation. Treatments comprised one row of soybeans between two rows of sunflower, with and without desiccation and two rows of soybeans (hill drilling) between two rows of sunflower, with and without desiccation. A check with soybeans cultivated in monoculture in double cropping with sunflower was included. Sowing dates of sunflower (cv. Contisol 711, short season) and of soybeans (cv. Santa Rosa, late season) were July 27 and November 28, 1988, respectively. Paraquat, at the rate of 400 g i.a./ha, was applied as desiccant. Desiccant application did not affect plant population, plant height and grain yield of sunflower sowed intercropped in soybeans, as compared with treatments without desiccation. There was no effect of plant population and arrangement on grain yield and plant height of soybeans. At low plant density, yield was compensated by a higher number of legumes per plant. Results showed the viability of intercropping soybeans and sunflower, particularly in small areas.

RESUMO

Foram comparados sistemas de arranjo de plantas de soja em consórcio de substituição com o girassol em maturação fisiológica, com e sem dessecação química, em Eldorado do Sul, RS, Bra. Os arranjos em consórcio foram: uma linha de soja entre duas de girassol, com e sem aplicação de desseccante, duas linhas de soja (semeadura em covas) entre duas de girassol, com e sem aplicação de desseccante na maturação fisiológica do girassol. Incluiu-se uma testemunha em que a soja foi cultivada em sucessão ao girassol em semeadura convencional. Foi utilizada a cultivar precoce Contisol 711 de girassol e a tardia Santa Rosa de soja, semeadas respectivamente em 27 de julho e 28 de novembro de 1988. Nos tratamentos com desseccante empregou-se o produto paraquat na dose de 400 g i.a./ha. A aplicação de desseccante no girassol não afetou significativamente a densidade, estatura de planta e o rendimento de grãos de soja, implantada em consórcio por ocasião de maturação fisiológica do girassol, em relação aos tratamentos em que não houve dessecação. Não houve efeito significativo de densidade a arranjo de plantas no rendimento de grãos e na estatura de planta de soja. Houve compensação no rendimento nos tratamentos com densidade mais baixa pelo aumento do número de legumes por planta. Os resultados evidenciaram a viabilidade de utilização de consórcio de substituição de soja e girassol, particularmente em pequenas áreas.

INTRODUÇÃO

A sucessão girassol-soja tem se mostrado tecnicamente viável nas regiões mais quentes do Estado do Rio Grande do Sul, devido à estação de crescimento mais ampla. No entanto, uma das limitações inerentes deste sistema é a semeadura da soja fora da época recomendada, resultando em decréscimos acentuados na produtividade. Por isto, há um crescente interesse por parte de produtores em alternativas para antecipar a semeadura da soja em sucessão ao girassol.

Dados meteorológicos da região fisiográfica da Depressão Central deste Estado (2) indicam a viabilidade de cultivo de duas culturas em sucessão, sendo a primeira no período de inverno-primavera e a segunda no de verão-outono.

Trabalhos desenvolvidos nesta região tem evidenciado como promissores, dentre outros sistemas, a sucessão girassol-soja, com o girassol participando como primeira cultura com semeadura em agosto (1). A semeadura de uma cultivar precoce de girassol nesta região em agosto possibilita a sua colheita na primeira quinzena de dezembro (6). Os rendimentos de grãos obtidos com soja em sucessão ao girassol, nesta região, tem sido satisfatórios, embora a época de semeadura (meados de dezembro) esteja forada recomendação (5).

Com a adoção do sistema de sucessão girassol-soja em algumas regiões do Estado, tem habido preocupação em antecipar, o máximo possível, a época de semeadura de soja. Desta forma, existe demanda, cada vez maior, para a obtenção de cultivares de girassol com ciclo ainda mais curto que os das atualmente disponíveis. No entanto, os resultados obtidos não tem

¹ Recebido para publicação em 16 de maio de 1990
Trabalho parcialmente financiado pela FAPERGS

* Prof. Adjunto, Departamento de Plantas de Labora de Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Bolsista do CNPq; Cx Postal 776, 90001, Porto Alegre, RS, Bra.

** Prof. Titular, Departamento de Plantas de Lavoura de Faculdade de Agronomia de UFRGS; Bolsista do CNPq.

*** Engo. Agro; aluno do Curso de Pós-Graduação em Agronomia da UGRGS; Bolsista da CAPES.

sido animadores, porquanto o potencial de rendimento de grãos tende a decrescer em cultivares mais precoces.

A antecipação da colheita de girassol, através do uso de densidade mais elevada de planta, também tem sido objeto de investigação, com resultados promissores (4). Em grandes produtores de girassol a antecipação da colheita mediante o uso de dessecantes tem sido amplamente utilizada, especialmente o paraquat e o diquat (7).

O girassol adapta-se à consorciação com outras culturas como feijão e mandioca. Num sistema de sucessão girassol-soja, a implantação da soja poderia ser antecipada através de sua consorciação com girassol em final de ciclo. Esta seria uma técnica adequada para áreas pequenas, com utilização de equipamentos menos sofisticados. A introdução da soja em consórcio com o girassol, por ocasião da maturação fisiológica deste último poderia antecipar em alguns dias a semeadura em comparação com o estabelecimento da soja após a colheita do girassol.

Para a viabilização deste sistema de consórcio é importante que se determine alguns parâmetros relativos ao sistema de consorciação, ou seja, qual a época de implantação mais adequada, bem como o arranjo de plantas que resulte em maiores rendimentos de grãos da soja.

Os objetivos deste trabalho foram: (1) determinar a viabilidade técnica de antecipação da época de semeadura da soja quando cultivada em sucessão ao girassol, através do seu estabelecimento em consórcio após a maturação fisiológica do girassol, com e sem aplicação de dessecante, e (2) comparar sistemas de arranjo de plantas de soja, implantados em consórcio com girassol, quanto ao rendimento de grãos e outras características agrônomicas.

MATERIAL E METODOS

O ensaio foi conduzido a campo na Estação Experimental Agrônômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em Eldorado do Sul, região fisiográfica da Depressão Central do Rio Grande do Sul, Brasil, no ano agrícola 1988/1989. O solo utilizado pertence à unidade de mapeamento São Jerônimo, classificado como Laterítico Bruno-Avermelhado, distrófico (Palcudult). O clima da região é do tipo Cfa, pela classificação de Köppen.

Os tratamentos ensaiados foram:

- Consórcio girassol-soja com uma linha de soja entre duas de girassol;

- consórcio girassol-soja, com duas linhas de soja entre duas de girassol;

- consórcio girassol-soja com uma linha de soja entre duas de girassol, com aplicação de dessecante em girassol;

- consórcio girassol-soja com duas linhas de soja entre duas de girassol, com aplicação de dessecante em girassol, e;

- soja em monocultivo na mesma época das outras semeaduras de soja.

A densidade de girassol foi de 50 000 plantas/ha em todos os tratamentos. Nos tratamentos 1 a 4, a densidade prevista para a soja foi de 200 000 plantas/ha, enquanto no tratamento 5 foi de 400 000 plantas/ha.

Como adubação de base para o girassol foram aplicados 20, 80 e 80 kg/ha de N, P₂O₅ e K₂O, respectivamente, utilizando-se 400 kg/ha da fórmula 5-20-20. A cultura da soja não foi adubada.

O girassol foi semeado em 27 de julho com emergência 10 dias após. O espaçamento utilizado foi o de um metro entre filas. Aos 28 dias após a emergência, as plantas atingiram o estágio V₄ (quatro folhas segundo escala de Schneiter e Miller (3), quando foi feito o desbaste e a adubação de cobertura de 80 kg de nitrogênio por hectare, na forma de uréia.

A maturação fisiológica do girassol (estádio R₉) ocorreu aos 124 dias (28/11) após a emergência. O dessecante paraquat foi aplicado neste estágio na dose recomendada de 400 g i.a./ha mais 0,2% de adjuvante. A vazão do aspersor foi de 300 l/ha, com velocidade de 1 m/s e pressão de 40 libras.

Um dia após a aplicação do dessecante foi semeada a soja, cultivar tardia, Santa Rosa. Nos tratamentos com uma linha de soja entre duas de girassol o espaçamento entre linhas de soja foi de 1 metro, enquanto que nos outros tratamentos o espaçamento entre linhas de soja foi de 0,5 metro. Foi utilizada uma semeadeira do tipo "saraquá".

Para viabilizar a germinação e emergência das sementes e desenvolvimento inicial das plântulas de soja procedeu-se duas irrigações aos 5 e 20 dias após a semeadura.

A colheita do girassol, nos tratamentos com dessecante, ocorreu aos 138 dias após a emergência e nos tratamentos sem aplicação de dessecante, aos 146 dias. A colheita da soja em todos os tratamentos ocorreu aos 174 dias após a semeadura.

A área útil da parcela de girassol e para a soja (tratamentos 1 e 3) foi de 10 m² e constou das duas linhas centrais, descartando meio metro em cada extremidade. Para os demais tratamentos com soja, o rendimento de grãos foi avaliado nas três linhas centrais, descartando meio metro em cada extremidade, numa área útil de 7.5 m². Foi determinado o rendimento de grãos em girassol e soja. Na soja também foi medida a estatura de planta e o número de legumes por planta em 15 plantas. Considerando a área ocupada por uma planta e o número de legumes nela contido, calculou-se o número de legumes por metro quadrado. Por ocasião do desbaste e da colheita, avaliou-se a população de plantas de soja.

A análise de variância foi realizada pelo F-teste e, quando significativa, procedeu-se a comparação entre médias de tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento médio de grãos de girassol foi de 2094 kg/ha, sem variação significativa entre os tratamentos.

A aplicação de dessecante no girassol foi eficiente, promovendo o secamento das plantas em três a quatro

dias. A possível vantagem à soja com maior radiação incidente nos estádios iniciais de desenvolvimento devido ao secamento das folhas de girassol com dessecante, não se concretizou, uma vez que não houve diferença no desenvolvimento de plantas nos tratamentos com e sem dessecante.

O rendimento de grãos e as características agrônômicas avaliadas nos tratamentos de soja implantada em consórcio com girassol dessecado quimicamente não diferiram significativamente daqueles obtidos quando o girassol não foi dessecado (Quadro 1).

Na comparação entre sistemas de arranjo de plantas de soja não houve diferença significativa entre eles quanto a rendimento de grãos (Quadro 1). Isto evidencia que a soja compensou as baixas densidades nos tratamentos com uma linha de soja entre duas de girassol e com duas linhas de soja entre duas de girassol (semeadura em covas) em comparação com o tratamento em que esta foi implantada com a densidade recomendada. Isto se deu pelo aumento do número de legumes por planta, uma vez que o número de legumes por unidade de área foi similar para todos os tratamentos (Quadro 1).

O rendimento médio de grãos da soja obtido no ensaio 2690 kg/ha, foi satisfatório se comparado com

Quadro 1. Densidade após desbaste e na colheita, estatura de planta, número de legumes por planta e por unidade de área e rendimento de grãos de soja cv. Santa Rosa em consórcio com girassol, com e sem aplicação de dessecante (EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, 1988/1989).

Tratamentos	Planta/m ²		Estatura de planta (cm)	legumes/planta	legumes/m ²	Rendimento de grãos (kg/ha)
	Após desbaste	Na colheita				
Sem aplicação de dessecante em girassol						
1. Uma linha de soja entre duas de girassol	16.1	11.0	103 N.S.	108 A*	1 739 N.S.	2 447 N.S.
2. Duas linhas de soja entre duas de girassol (semeadura em covas)	23.7	15.6	97	75 AB	1 778	3 057
Com aplicação de dessecante em girassol						
3. Uma linha de soja entre duas de girassol	18.8	10.4	103	97 AB	1 824	2 434
4. Duas linhas de soja entre duas de girassol (semeadura em covas)	23.6	15.0	100	74 AB	1 746	2 601
5. Soja no sistema convencional, em sucessão ao girassol	32.7	23.5	109	61 B	1 995	2 897

* Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%. N.S. Não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

a média de rendimento de grãos de soja obtida no estado do Rio Grande Do Sul no mesmo ano agrícola (1716 kg/ha). Outro aspecto a considerar é que a cultura da soja não recebeu adubação, tendo se beneficiado apenas da adubação residual do girassol.

Os resultados obtidos com os tratamentos em que a soja foi implantada em covas entre filas de girassol evidenciaram a viabilidade de utilização deste tipo de consórcio, particularmente em pequenas áreas. Semeando a soja antes da colheita do girassol, antecipou-se em 15 a 20 dias a época de semeadura, em relação ao plantio que seria feito após a colheita do girassol, ou seja, ao invés de meados de dezembro ela foi semeada em fins de novembro. Como se trata de uma cultura bastante sensível ao atraso de época de semeadura, esta antecipação certamente resulta no obtenção de rendimento de grãos mais elevado. Outro aspecto positivo advindo do consórcio de substituição é a melhoria nas condições de controle de ervas daninhas na soja via sombreamento exercido pelas folhas de girassol ainda existentes por ocasião da maturação fisiológica.

Para utilização deste sistema de cultivo específico, há necessidade de realização da colheita manual de girassol. Outro requisito importante para a sua viabilização é a semeadura de uma cultivar precoce de girassol cedo (fins de julho-início de agosto), tendo em vista não atrasar demasiadamente a época da semeadura da soja.

CONCLUSOES

A utilização de dessecante químico em girassol na maturação fisiológica não afetou a densidade de planta e o rendimento de grãos obtidos na cultura de soja implantada em consórcio, independentemente de arranjo de plantas.

A redução na densidade de plantas de soja nos sistemas em que ela foi consorciada com girassol, seja na semeadura em linha quanto em cova, não resultou em decréscimo de rendimento de grãos.

A semeadura de soja em covas, com equipamento manual, em consórcio de substituição com girassol é viável para introdução em pequenas áreas resultando em antecipação da sua época de semeadura.

LITERATURA CITADA

- HECKLER, J.C.; SILVA, P.R.F. DA. 1985. Sistemas de sucessão e rotação de culturas de estação estival de crescimento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* (Brasília) 20(9):1069-1076.
- IPAGRO. 1979. Guaíba. *In* Observações meteorológicas no estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. p. 55-66.
- SCHNEITER, A.A.; MILLER, J.F. 1988. Description of sunflower growth stages. *Crop Science* 21(6):901-903.
- SILVA, P.R.F. DA; NEPOMUCENO, A.L. 1988. Efeito do arranjo de plantas com e sem controle de ervas daninhas nas características de planta associadas à colheita de girassol. *In* Reunião Nacional de Pesquisa de Girassol (6., 1988, Porto Alegre). Resumos. Porto Alegre, UFRGS. p. 9-13.
- SILVA, P.R.F. DA. 1988. Sucessão e rotação de culturas. *In* Girassol: Indicações para o cultivo no Rio Grande do Sul. 2 ed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. p. 57-60.
- SILVA, P.R.F. DA.; DALBEM, M.L.M. 1989. Sistemas de cultivo com milho e soja em sucessão a girassol semeado em Agosto. *Lavoura Arrozeira* 42(383):23-29.
- THELWELL, N.; BENNETT, M.J.J. 1988. Pre-harvest desiccation of sunflower with Diquat: Recent developments in drift reduction. *In* International Sunflower Conference (12., 1988, Novi Sad, Yugoslavia). Proceedings. Novi Sad, International Sunflower Association. p. 231-235.