

# TURRIALBA

REVISTA INTERAMERICANA DE CIENCIAS AGRICOLAS

VOLUMEN 31

TRIMESTRE JULIO-SETIEMBRE 1981

NUMERO 3

CODEN: TURRAB 31(3)169-280

*Uso de la isoterma de adsorción para evaluar requerimientos de fósforo I. Isotermas de adsorción de los suelos.*  
Danilo López-Hernández, I. Coronel, L. Alvarez . . . . . 169

*Uso de la isoterma de adsorción para evaluar requerimientos de fósforo. II. Determinación con base en los datos de adsorción, del requerimiento externo de P para Vigna unguiculata L. Var Tuy. (en español)*  
Danilo Lopez-Hernández, I. Coronel, L. Alvarez . . . . . 181

*Descripción de instares y observaciones sobre la biología del gusano verde del repollo, Pieris rapa Boisduval (en español).*  
Pedro José Salinas, Armando Briceño . . . . . 189

*Caracterización de la cepa "Bouquet" del virus del Anillo Negro del tomate aislado en Brasil de semilla de papa importada (en inglés).*  
Massae Kudamatsu, M. M. Barradas, A. P. C. Alba . . . . . 195

*Actividad de substancias del tipo de las auxinas para inducir feminidad en el frijol de castor (Ricinus communis L.) Influencia de la quinetina y la morfacina (en inglés).*  
N. Raja Kumar, P. Gopala Rao . . . . . 201

*Comparación de algunas coberturas inertes ("mulches") para utilizarlas en viveros de eucaliptos en Brasil (en inglés).*  
R. D. Ayling, P. J. Birzins . . . . . 209

*Contribución al estudio del fósforo en suelos ácidos. I. Características de adsorción y fracciones de P en una tierra parda del noreste de España (en español).*  
J. Arines, Ma. Teresa Alvarez . . . . . 217

*Efectos del desecamiento del suelo sobre el metabolismo de nitrógeno en tres cultivares de maíz (Zea mays L.) (en español).*  
Roberto Pereyra Rossiello, Manlio Silvestre Fernández, Nelson Mazur . . . . . 227

*Avances de la investigación realizada en el Perú sobre los efectos de la salinidad en la producción de la caña de azúcar (en español).*  
Sergio Valdivia . . . . . 237

*Efecto de aminoácidos en el desarrollo de callosidad y en la morfogénesis radical en hojas de frijol (Phaseolus vulgaris) cultivadas in vitro (en inglés).*  
Geni S. Tonin, Maria T. V. de Carvalho, William R. Sharp, Otto J. Crocomo . . . . . 245

*Comunicaciones . . . . . 253*

*Control de la sigatoka amarilla del plátano con "Delsene" M-200, nuevo fungicida Carbendazim/Mancozeb (en inglés).*  
Maxine P. Turner, Suzanne Chan, C. A. Shillingford . . . . . 253

*Reinas en nidos múltiples de hormigas Atta texana (Buckley 1860); (Hymenoptera: formicidae) (en inglés).*  
J. C. Moser, J. R. Lewis . . . . . 256

*Características químicas de las semillas de tarhui (Lupinus mutabilis) cosechadas en Cuzco, Perú (en español).*  
Mario Blasco Lamenza, Donato R. Horque F., Joaquín de Cabanyes . . . . . 258

*Incremento periódico anual del diámetro (DAP) en la zona subtropical húmeda de Puerto Rico (en inglés).*  
Ralph Schmidt, Peter L. Weaver . . . . . 261

*Regulación química de la floración y fructificación en ajonjolí (Sesamum indicum L.) (en español).*  
R. Salinas, M. Rojas Garcidueñas . . . . . 263

*Investigaciones sobre el control del barrenador del tallo de la cola (Phosphorus virescens Oliver). (Cerambícidae: coleóptera) en Nigèria Occidental (en inglés).*  
Akinwale A. Ojo . . . . . 267

*Reducción de nitratos en algunos pastos tropicales en su ambiente natural (en inglés).*  
A. C. Adebona, A. O. Alli . . . . . 270

*Reseñas de libros . . . . . 273*



INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA

San José, Costa Rica

CR ISSN 0041 - 4360

# USO DE LA ISOTERMA DE ADSORCION PARA EVALUAR REQUERIMIENTOS DE FOSFORO

---

## I. ISOTERMAS DE ADSORCION DE LOS SUELOS<sup>1</sup> /

---

DANILO LOPEZ HERNANDEZ\*  
I. CORONEL\*  
L. ALVAREZ\*

### Abstract

*The principal aim of this research work is to determine the phosphorus fertilizer requirements in some Venezuelan soils. The chosen soils were contrasting in both chemical and textural characteristics. The method consisted in determining, firstly the phosphorus adsorption isotherm (for each soil) and secondly, the P requirement of the plant crop under study, determined from pot or field experiments*

*This first paper details the study performed on the chemical characteristics of six representative Venezuelan soils making emphasis in their P- adsorption behaviour. It was found that six (6) days is a convenient period for the adsorption reactions to complete (equilibrate) and also that the reaction is temperature dependent. The well known Langmuir's isotherm model was found to adjust at the lower P additions (0-5 ppm P in equilibrium). On the other hand, the Temkin's model allows for the use of a wider P fertilizer treatments (until 12 ppm P in equilibrium). Phosphorus retention in these soils is a function both, of Fe and Al "active" forms and of the textural characteristics.*

### Introducción

**U**n desiderátum importante de la química agrícola moderna ha sido el de obtener métodos que permitan determinar con precisión las dosis de fertilizantes necesarias para lograr resultados óptimos de producción. En la definición de objetivos como ese, son múltiples los factores que hay que considerar, algunos estrechamente ligados a las características químicas del fertilizante, por ejemplo, su poca o gran movilidad en el suelo, propiedad que es definida por la capacidad de los suelos para retenerlo en formas total o parcialmente inaprovechables.

Por otro lado, las características del cultivo bajo estudio son también determinantes en el momento de definir una dosis de fertilizante químico. Es bien conocido que las necesidades o requerimientos varían de una especie a otra y que tales requerimientos dependen también de las características genotípicas y fenotípicas como son la extensión radical y la duración del ciclo de vida de la especie (anual o perenne), además de la etapa vegetativa de la planta ya que la demanda nutricional de un determinado cultivar será diferente si la determinación de ese parámetro fisiológico se realiza en dos períodos diferentes en la vida de la especie. En forma general, se puede señalar que las necesidades de nutrientes son más elevadas al comienzo del período vegetativo que en las etapas de floración y fructificación (7).

<sup>1</sup> Recibido para publicación el 20 de agosto de 1980. Se agradece la colaboración financiera del CONICIT (proyecto 0460). L. Alvarez agradece la subvención concedida por este mismo Organismo, para finalizar su Trabajo Especial de Grado.

\* Laboratorio de Estudios Ambientales, Instituto de Zoología Tropical, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela.

Son numerosos los métodos que se han propuesto para estimar el *status* del fósforo en los suelos. Algunas de esas metodologías analizan directamente el nivel (o cantidad) del elemento en su forma aprovechable y tal parámetro corresponde al llamado valor Q. En otros casos se analiza la concentración del ele-

mento existente en la solución del suelo (valor I), pero modernamente se ha encontrado que es más conveniente la utilización de medidas que reflejen la interrelación de ambos parámetros, Q e I (1, 17).

#### La isoterna de adsorción como método para evaluar los requerimientos de fósforo en los suelos

Una isoterna de adsorción incluye un factor intensidad (I) que corresponde a la concentración de fosfatos en la solución en equilibrio y un factor (Q) representado por la cantidad de fósforo que está adsorbido en la superficie del suelo. Así, es posible en este diagrama de partición definir la dosis de P necesaria para alcanzar un valor predeterminado de P en el punto de equilibrio.

La concentración en tal punto de equilibrio, requerida para obtener un rendimiento óptimo de un cultivo será denominada en el presente trabajo como "requerimiento externo de P" para la especie. Tal característica debe ser una propiedad inherente a la especie en cuestión, aunque puede variar de acuerdo con el estado vegetativo de la misma y debe ser, dentro de la medida de lo posible, independiente del tipo de suelo. Si estas condiciones se cumplen, es factible utilizar el diagrama de adsorción para obtener (por interpolación), los requerimientos de abono fosfatado necesarios para un óptimo de producción en diferentes series de suelos.

El método ha sido utilizado en pastos para suelos de Nueva Zelanda por Ozanne y Shaw (24) quienes informan de un requerimiento externo para estos cultivos de 0.3 ppm. Fox *et al.* (5, 6, 7) señalan la conveniencia de este método para predecir los requerimientos de fertilizantes fosforados en suelos de propiedades físicas y químicas contrastantes; los experimentos realizados por esos autores incluyen diferentes especies cultivables tanto en condiciones de invernadero como en ensayos de campo (5, 6).

Es importante señalar que el uso de las isotermas de adsorción como técnica para la determinación de requerimientos de nutrientes no es aplicable sólo al caso particular del fósforo. Así, Singh y Jones (27) utilizaron este método para evaluar requerimientos de K en suelos y también Shumway y Jones (26) lo usaron a fin de definir cuantitativamente las necesidades de boro.

El objeto de la presente investigación es el de presentar un conjunto de contribuciones sobre el uso del método de la isoterna de adsorción para predecir requerimientos de fósforo en varios suelos venezolanos. Como cultivo experimental se usó el

frijol bayo *Vigna unguiculata* L. var. Tuy, y los resultados experimentales fueron confrontados con la información que suministran otros métodos experimentales. En esta contribución se hizo un estudio detallado de las características generales de los suelos utilizados y se incluyeron sus respectivas isotermas de adsorción.

#### Materiales y métodos

**Suelos:** Se utilizó el horizonte superficial (0-10 cm) de seis suelos localizados en distintas regiones del país. Las características generales de los mismos se detallan en el Cuadro 1.

#### Métodos:

Los métodos utilizados para la caracterización química de las muestras (Cuadro 1) y para los análisis de las reacciones de adsorción aparecen detallados en el apéndice I.

#### Resultados y discusión

##### Determinación del tiempo de equilibrio para la adsorción

En la Figura 1 se representa la cantidad de fósforo que permanece en la solución en función del tiempo. Hay una caída drástica en el nivel de P en solución, en especial en las primeras 12 horas de reacción, de manera tal que en ese relativamente corto lapso hasta un 85% del fósforo añadido al suelo Majomal es adsorbido por el suelo. En los siguientes días la reacción tiende a estabilizarse por lo que se tomó el lapso de 6 días como el tiempo de equilibrio necesario para los estudios de adsorción.

Con fines comparativos, el tiempo de equilibrio fue a su vez determinado haciendo variar, por un lado, el modo de agitación y, por otro, la fuente de fosfato (Figura 2). En el primer caso, en lugar de agitar las muestras 5 minutos dos veces diarias, éstas se mantuvieron en agitación constante; en lo que respecta al fertilizante añadido (2º caso) se suministraron soluciones de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  además de fosfato de calcio.

La Figura 1 muestra que, en los primeros días de equilibrio, los valores de fosfato en el extracto son menores cuando el suelo es agitado en forma continua, es decir, que ocurre una mayor adsorción inicial; este resultado es de esperar, ya que el contacto entre la solución de fósforo y las superficies activas del suelo es mayor bajo agitación continua. Sin embargo, cuando el tiempo de agitación es más prolongado (6

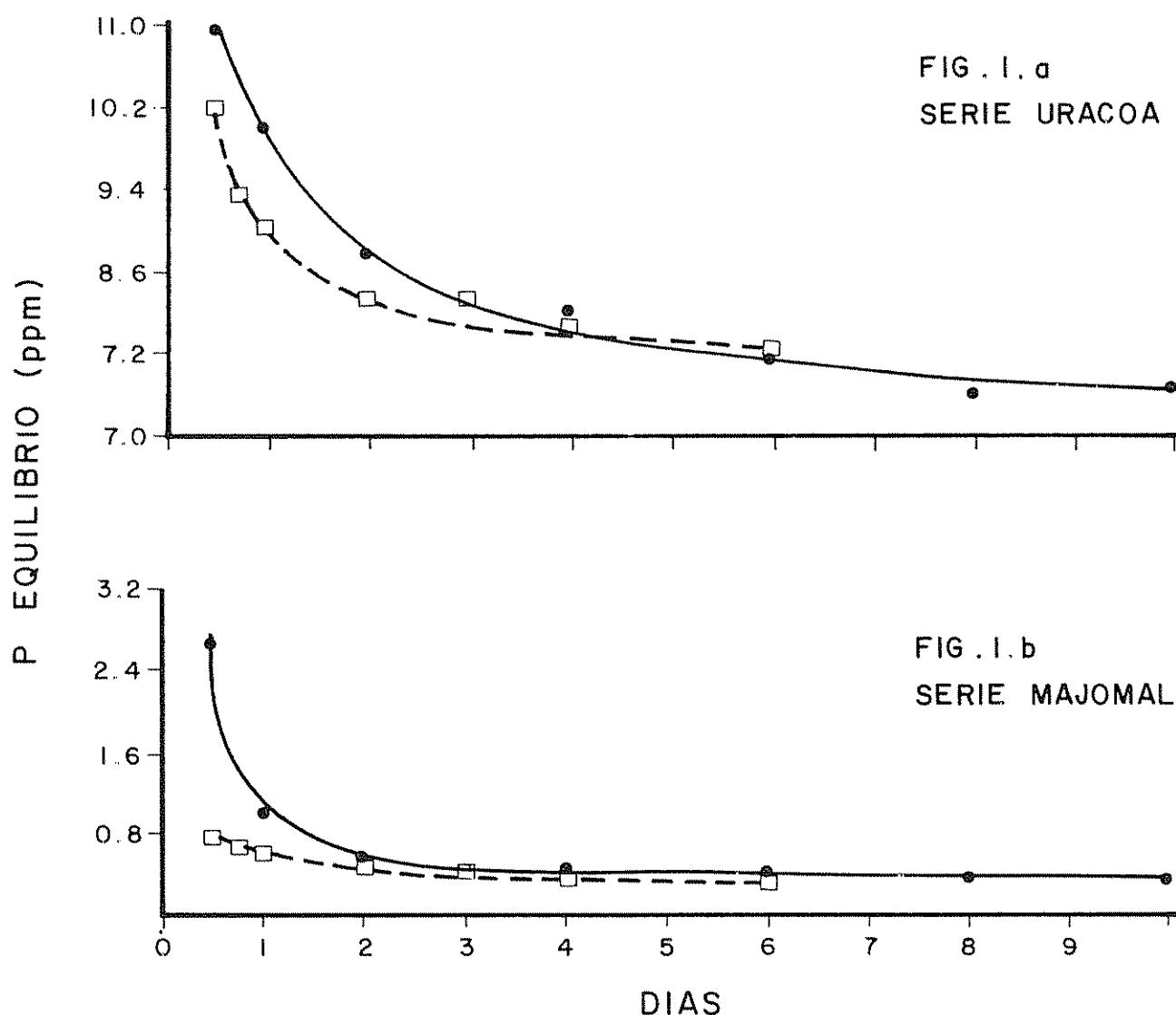


Fig. 1 Efecto de la forma de agitación sobre el tiempo de equilibrio. Forma de agitación: 5 minutos dos veces diarias (●); agitación continua (□)

días), el monto del fosfato adsorbido es indiferente de la modalidad de agitación (continua o parcial. Figura 1).

En cuanto a la fuente de fosfato añadido, los resultados obtenidos se muestran en la Figura 2. De acuerdo con las curvas, los niveles de fosfato se mantienen razonablemente estables después del sexto día, independientemente del tipo de sustancia utilizada. También se observó que para la serie Uracoa con el sistema  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , el fosfato remanente en el extracto es ligeramente mayor que cuando la fuente de fósforo es  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ .

#### Efecto de la temperatura sobre la adsorción de fosfatos

Las reacciones de adsorción son dependientes de la temperatura, de manera tal que bajo un incremento térmico la adsorción física decrece. En el caso específico de la adsorción de fosfatos por el suelo (componentes químicos del mismo) el proceso ha sido demostrado que es una quimisorción de naturaleza exotérmica (la adsorción incrementa con la temperatura) (8, 18, 21). En el ambiente que fueron realizadas las investigaciones aquí reseñadas interesa estudiar el efecto de un rango de temperatura com-

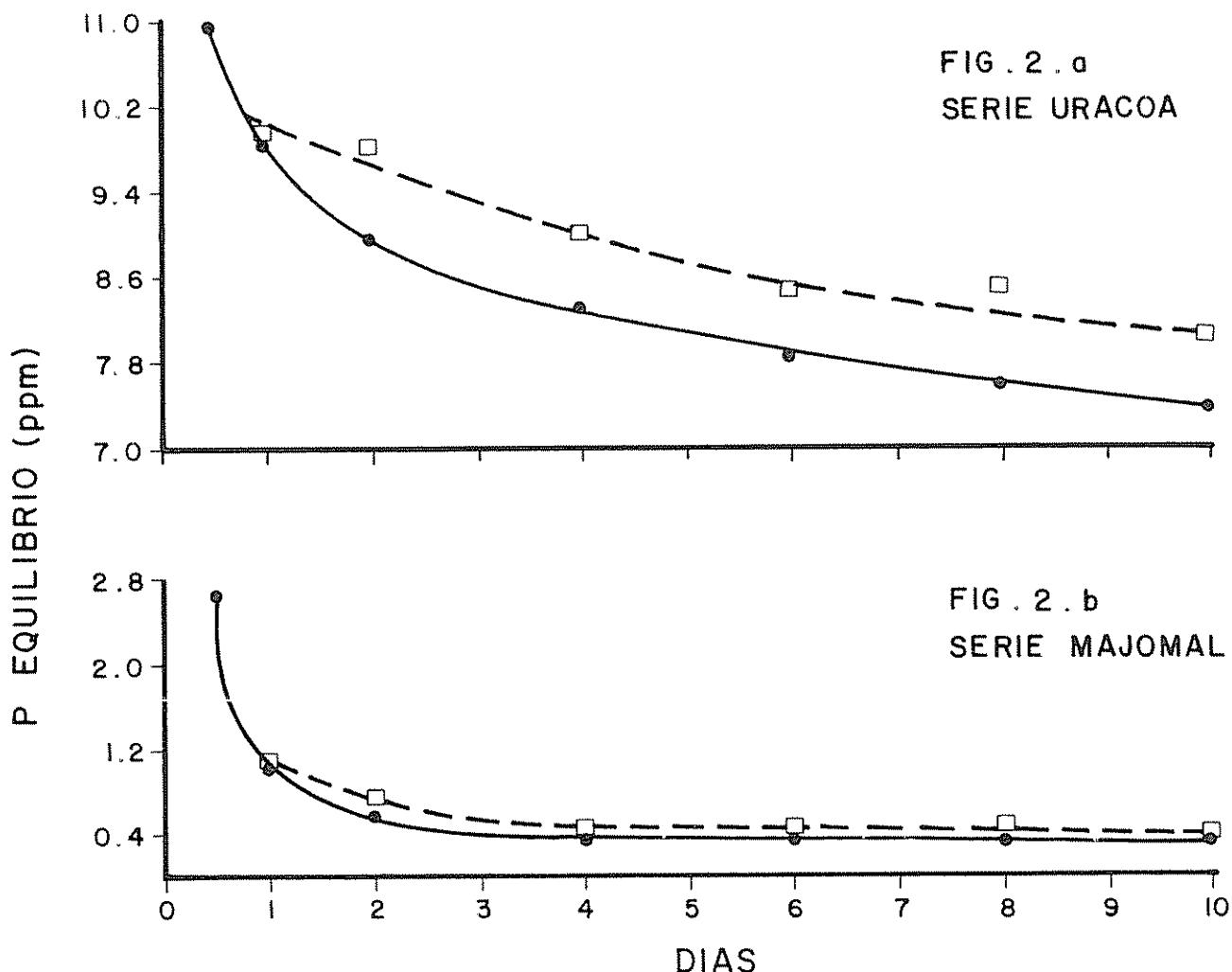


Fig. 2. Efecto de la fuente de fosfato sobre la adsorción,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (□)    $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)$  (●)

prendido entre 20 y 30°C ya que las mismas corresponden a los extremos (mínimo y máximo) que fueron registrados en el ambiente donde se realizaron los experimentos de invernaderos (ver contribución II).

En la Figura 3 se presentan los resultados experimentales del efecto de la temperatura obtenidos tanto para la serie Majomal como para la Uracoa; como punto de experimentación se usó 200 ppm. Para el suelo Majomal, se observa una disminución notable en el nivel de fósforo en solución cuando la temperatura sube de 20 a 30°C, siendo menores los cambios en los otros puntos estudiados (5 a 20°C y 30 a 40°C). Por el contrario, en el caso de la serie Uracoa el efecto de la temperatura fue más notable

para los cambios alrededor de las temperaturas extremas. Los resultados de este experimento, si bien sugieren que el efecto de la temperatura sobre la adsorción química del fósforo difiere de acuerdo con la naturaleza del suelo bajo estudio, a su vez señalan que tal fenómeno no se debe subestimar ya que en algunos casos se pueden presentar discordancias apreciables entre las condiciones de temperatura del laboratorio (donde se obtiene la isoterma de adsorción) y el invernadero (o campo experimental) donde se estudia el requerimiento nutrimental de la especie. Si el método de los diagramas Q, I (isotermas) es utilizado para la determinación de las dosis de fertilizantes, no se descarta que se deban efectuar correcciones adecuadas de temperatura en el caso de que los ensayos de laboratorios y de inver-

Cuadro 1. Características generales de los suelos analizados.

Localidad o Serie Orden	Banco Alfisol	Calabozo Oxisol	Tamaca Ultisol	Uverito Oxisol	Majomal Entisol	Uracoa Oxisol?
pH en agua	4.75	5.05	4.35	4.85	4.60	4.85
pH en KCl	4.30	4.20	4.00	4.50	4.30	4.40
Al Intercamb (meq/100 g suelo)	0.52	0.13	1.26	0.21	1.08	1.05
Fe libre (meq/100 g suelo)	20.2	14.5	18.1	8.0	29.8	14.1
Mat. Orgánica %	1.37	0.72	1.94	0.35	10.60	2.22
P Disponible (ppm)	0.0	3.0	6.5	0.0	41.0	6.0
K (ppm)	20.8	21.5	79.5	13.1	558.0	17.0
Na (ppm)	13.4	11.3	11.6	10.8	49.0	30.0
Ca (ppm)	38.6	118.0	160.0	29.9	833.0	8.0
Mg (ppm)	14.2	18.6	25.4	10.2	—	—
Mn (ppm)	59.2	16.8	16.4	2.2	117.0	0.0
Req. CaCO <sub>3</sub> (Ton/ha)	4.50	2.30	7.50	0.00	30.30	7.72
C. I. C. (meq Na/100 g)	6.00	16.70	24.00	9.30	40.42	8.52
Textura	Francoarenoso	Francoarcillo arenoso	Arcilloso	Arenoso	Arcilloso	Francoarenoso

nadero sean conducidos en condiciones térmicas diferentes (18).

#### Isotermas de adsorción de los suelos analizados

Las Figuras 4 y 5 representan los valores de adsorción de acuerdo con la ecuación convencional de Langmuir ( $c/x/m$  contra  $c$ ) (16, 23). Para los suelos

Tamaca, Majomal y Uverito se obtuvo una relación lineal en todo el rango de concentraciones de P en el equilibrio (0-5 ppm). En el caso de los suelos Calabozo y Uracoa existen dos relaciones lineales con un punto de inflexión a 2.2 ppm; mientras que el suelo Banco presenta una gran dispersión en los puntos que corresponden a las más bajas concentraciones de equilibrio (< 0.5 ppm). Los resultados presentados corroboran información recientemente publicada (25, 28).

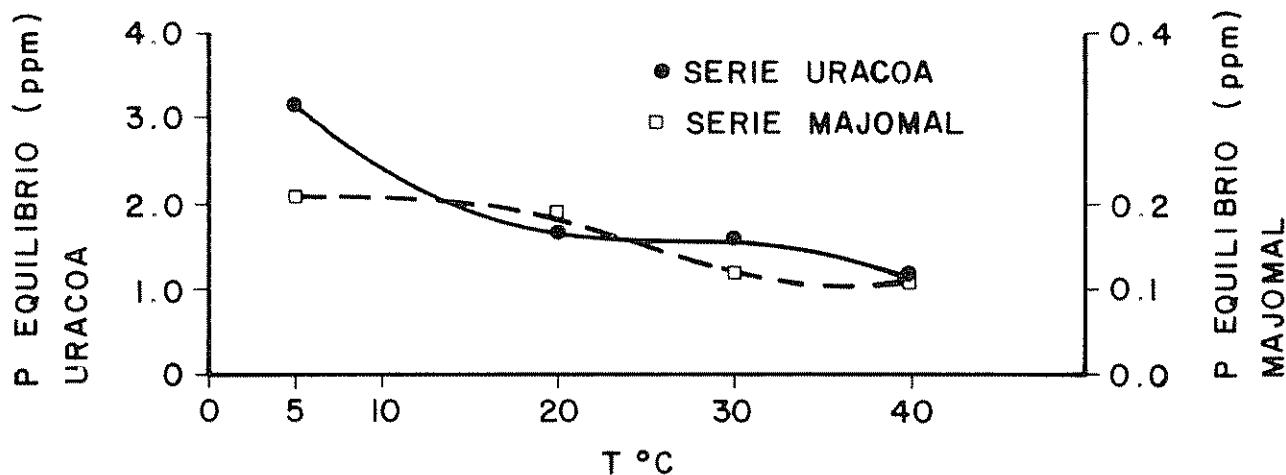


Fig. 3 Efecto de la temperatura sobre la adsorción.

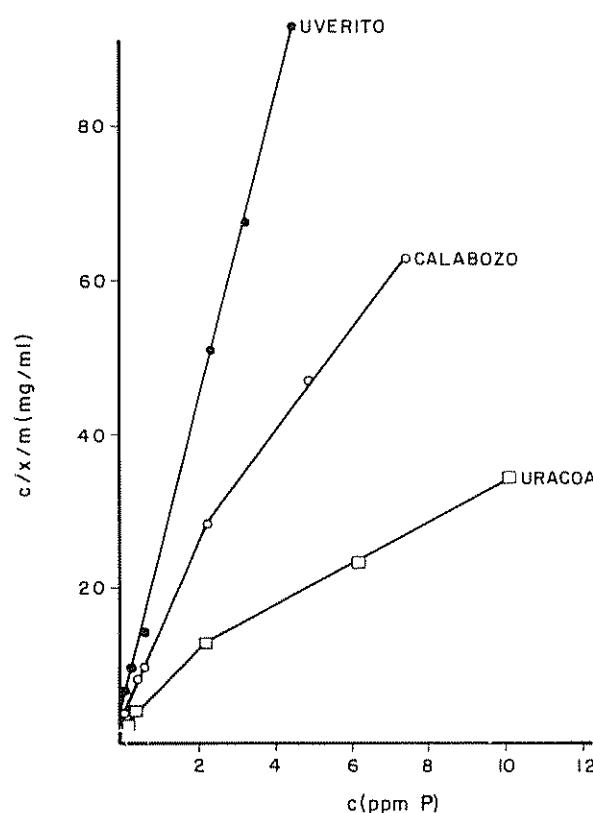


Fig. 4. Isotermas de adsorción de P según el modelo de Langmuir.

en donde se señala que el mejor ajuste para los datos de adsorción en suelos se hace con una ecuación binaria de Langmuir. La separación en las zonas de adsorción sugiere la existencia, en cada suelo, de dos regiones distintas de adsorción con diferentes afinidades por el anión ortofosfato. Por otro lado Gunary (9) y Larsen (13) presentan evidencias de que la ecuación de Langmuir puede no ser siempre aplicable. Los investigadores de la estación experimental de

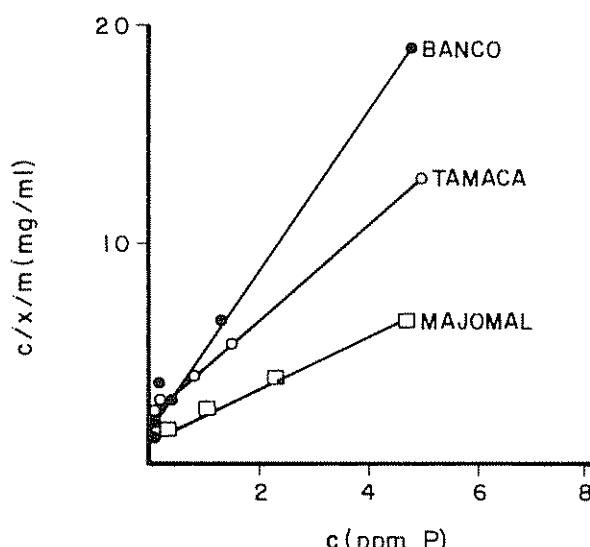


Fig. 5. Isotermas de adsorción de P según el modelo de Langmuir.

Levington (13) encontraron en un estudio de 120 suelos diferentes, que la relación  $c/x/m$  contra  $c$  fue curvilínea en la mayoría de los casos. Recientemente algunos autores (1, 16, 17) han utilizado el diagrama de Temkin, representado para las muestras estudiadas en las Figuras 6 y 7. El modelo de Temkin se representa en escala semilogarítmica como  $x$  vs  $\ln c$ , por tanto permite estudiar una gama más amplia de concentraciones del adsorbato. Esta situación es más realista puesto que en el sistema-suelo coexisten desde concentraciones de fósforo extraordinariamente bajas (0.01 ppm) en la solución del suelo hasta valores relativamente altos en las cercanías del gránulo de fertilizante; en lo que a nuestro estudio concierne el modelo de Temkin se ajustó hasta 12 ppm de P en el equilibrio cuando se trabajó con dosis de fertilizante de uso común en las prácticas agrícolas intensivas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Capacidad máxima de adsorción de P ( $X_{\text{max}}$ ) y constante de energía de retención ( $K$ ) de los suelos estudiados, valores calculados a partir de la ecuación de Langmuir\*.

Suelo	Recta de Correlación	Coef. de Correlación	$X_{\text{max}}$ mg/g suelo	K	Dosis de P Usadas (ppm)
Tamaca	$y = 21.14x + 2.27$	0.91	0.46	0.95	20-300
Uverito	$y = 19.61x + 4.30$	0.99	0.05	4.57	10-300
Banco	$y = 4.20x + 1.43$	0.91	0.24	2.94	30-500
Calabozo	$y = 11.75x + 2.53$	0.99	0.09	4.64	10-500
Majomal	$y = 1.03x + 1.53$	0.91	0.97	0.68	100-1 000
Uracoa	$y = 5.00x + 1.53$	0.99	0.20	3.28	40-500

\* La ecuación de Langmuir fue calculada con datos de adsorción correspondientes a concentraciones de P en equilibrio  $\leq$  a 2.5 ppm.

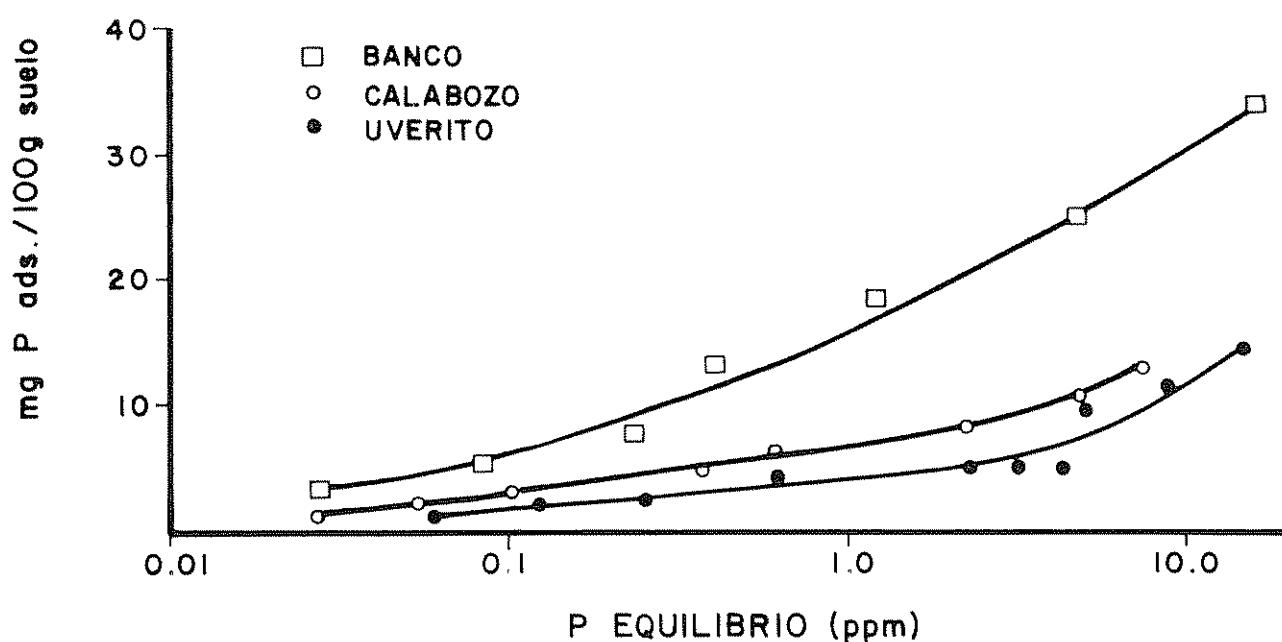


Fig. 6. Isothermas de adsorción de P según el modelo de Temkin.

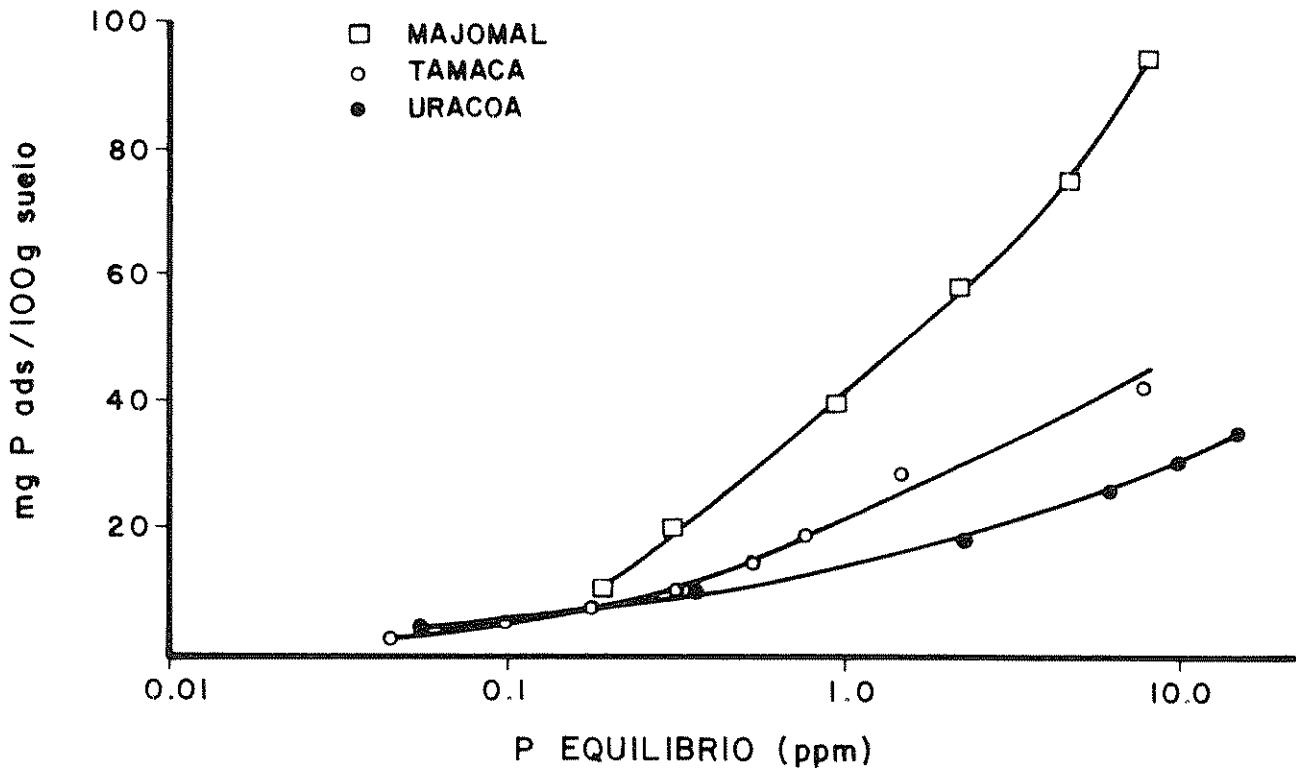


Fig. 7. Isothermas de adsorción de P según el modelo de Temkin.

La ecuación de Langmuir, sin embargo, presenta la gran ventaja de que, cuando los datos se ajustan a una linea recta, se puede calcular, a expensas de esa gráfica, los valores  $X_m$  (capacidad máxima de retención) y la constante ( $k$ ) de energía de retención (17, 25).

Estos valores para los suelos bajo estudio se presentan en el Cuadro 2. La linea recta en este caso fue ajustada para valores de P en equilibrio inferiores a 2.5 ppm. La capacidad máxima de retención de fosfato sigue el orden Majomal > Tamaca > Banco > Uracoa > Calabozo > Uverito, con valores que oscilan entre 970  $\mu\text{g/g}$  para el suelo Majomal a 51  $\mu\text{g/g}$  para el suelo Uverito. Syers *et al.* (28) presentan valores comprendidos entre 73-990  $\mu\text{g/g}$  para suelos brasileños los cuales son muy semejantes a los aquí señalados. Sin embargo, Fox *et al.* (5) para suelos tropicales de Hawaii anotan valores de  $X_m$  superiores a 2 500  $\mu\text{g/g}$ .

La capacidad máxima de retención de aniones es un parámetro estrechamente relacionado con los elementos del complejo adsorbente del suelo; en particular destaca, para suelos y sedimentos ácidos, el papel esencial, en este proceso, de las formas "activas" del hierro, aluminio y manganeso (11, 15, 17); mientras que para suelos calcáreos la retención se atribuye además a la presencia de calcio (13, 17). Si para los suelos estudiados se comparan los valores correspondientes al contenido de aluminio intercambiable y de hierro libre (Cuadro 1) con la capacidad máxima de retención (Cuadro 2) se observa, en general, una estrecha asociación entre los primeros factores y la capacidad adsorptiva del suelo; de la misma manera los suelos más arcillosos (Majomal y Tamaca, Cuadro 1) presentan valores de retención más altos que los constituidos por partículas más gruesas (v.g. Uverito y Banco). La materia orgánica al parecer no juega un papel muy claro, no observándose, por tanto, una tendencia definida entre ambos parámetros; resultados como éste ya han sido señalados en la literatura (15, 30). López Hernández (17) ha señalado que las discrepancias con relación a este fenómeno se deben a la dualidad de la materia orgánica, la cual puede fijar fosfato, sobre todo a través de los complejos organometálicos (del Fe o Al principalmente) (14, 29), pero también es conocida la capacidad que tienen los derivados de la materia orgánica para bloquear los sitios de adsorción (19, 20, 22). Si se comparan los valores de la constante de energía de retención ( $k$ ) con el contenido de materia orgánica de los suelos analizados (Cuadro 1 y 2) se observa que existe entre ambas propiedades una cierta asociación negativa; Datta y Srivastava (4) para suelos de la India indicaron que para suelos con el mismo contenido de sesquióxidos, la energía de enlace era menor mientras mayor era el contenido de materia orgánica de dichos

suelos; es conveniente añadir que si bien existen pocos estudios en la literatura sobre este tópico, el hecho esencial que indica esta asociación está estrechamente ligado al papel benéfico de la materia orgánica como enmienda del *status* de P disponible en el suelo.

### Conclusiones

La capacidad que tienen los suelos de diferentes latitudes del mundo para retener y posteriormente inmovilizar fertilizantes fosforados puede ser medida de acuerdo con dos procedimientos generales. En trabajos rutinarios para los cuales sea necesario procesar un gran volumen de información es más apropiado utilizar un índice de retención; tal índice permite separar las muestras (Series de Suelos) de acuerdo con esta propiedad (15, 17). En otros estudios es más conveniente hacer un análisis detallado de la reacción de adsorción bien para inferir sobre los mecanismos que controlan la retención (5, 13, 15), o como método para evaluar las necesidades de fertilizantes en los suelos. En este último sentido varios autores señalan la conveniencia de utilizar el diagrama de partición ( $Q$ ,  $I$ ) tradicionalmente conocido como isotermas de adsorción (5, 6, 18, 24).

En los suelos analizados en este trabajo la adsorción (en bajas concentraciones de equilibrio 0-5 ppm P) se ajusta al modelo de Langmuir. Es conveniente recalcar que esos niveles de P en el equilibrio no corresponden a dosis de fertilizantes sugeridas de manera arbitraria; por el contrario, los niveles de fertilizantes empleados corresponden a dosis de abono que podrían ser utilizados en prácticas agrícolas normales (el Cuadro 2 presenta el rango de concentración de fertilizante usado para cada serie de suelo). En la próxima contribución se hará un estudio de la respuesta del frijol bayo (*Vigna unguiculata* L. var Tuy) a dosis de fertilizantes como las descritas por las isotermas de adsorción presentadas en este trabajo preliminar.

### Resumen

El objetivo general de esta investigación es el de determinar los requerimientos de fertilizantes fosforados en suelos venezolanos de características texturales y químicas contrastantes. La metodología consiste en determinar la capacidad de retención (o adsorción) de los suelos utilizando la técnica de la isoterma de adsorción, simultáneamente con un análisis del llamado "requerimiento externo" (concentración en la solución del suelo) necesario para alcanzar un "óptimo" en el rendimiento del cultivo bajo estudio. En esta primera contribución se hace un estudio detallado de las características químicas y de los parámetros

de adsorción de los suelos escogidos. Un período de seis días fue determinado como el tiempo conveniente de equilibrio para los experimentos de adsorción, encontrándose además dependencia de estas reacciones con las temperaturas ensayadas.

El modelo tradicional de la isoterma de Langmuir se ajusta bien en las bajas dosis de fósforo ensayadas (0.5 ppm), mientras que el modelo de Temkin permite un ajuste hasta 12 ppm de fósforo en la solución de equilibrio. La retención de fósforo en estos suelos está en una buena medida relacionada con los niveles de Fe y Al "activos" y con las características texturales.

## APENDICE I

### Métodos usados

#### Análisis químicos de los suelos

Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

#### Determinación de pH en agua

Se prepara una suspensión acuosa en una relación 1:5, agitándose durante 20 minutos. Al final de la agitación se mide el pH de la suspensión con un electrodo de vidrio.

#### Determinación de pH en solución de KCl

A la muestra de suelo se le añade una solución de KCl 0.02 M en una relación 1:5. Se agita mecánicamente durante 1 hora, midiéndose en la suspensión el pH.

#### Determinación de aluminio intercambiable

Se utilizó un método reseñado previamente por López-Hernández y Burnham (15).

#### Determinación de hierro libre

Fue extraído con ditionito de sodio, ácido cítrico y citrato de sodio de acuerdo con Coffin (3). El hierro extraído se determina mediante fotocolorimetría o absorción atómica.

### Determinación de materia orgánica

Es una adaptación del método de oxidación crómica de Walkley y Black, reseñado por Jackson (12).

### Determinación del P disponible

Mediante la solución extractora Carolina del Norte. El fosfato disponible fue analizado por el método del ácido vanadomolibdofósforico (12).

### Determinación de K, Na, Ca disponible

Las muestras de suelo fueron tratadas con la solución extractora Carolina del Norte y analizadas por absorción atómica.

### Capacidad de intercambio catiónico.

Según el método reseñado por Hesse (10), el cual se basa en la utilización de acetato de sodio para desplazar los cationes presentes en la muestra.

### Análisis mecánico.

La textura de los suelos se analizó por el método del hidrómetro (2).

### Requerimiento de encalado.

Se siguió la metodología desarrollada por Shoemaker reseñada por Hesse (10).

### Obtención de las isothermas de adsorción

#### Determinación del tiempo de equilibrio apropiado para la construcción de las isothermas de adsorción.

A 5 g de suelo secado al aire y pasado por un tamiz de 32 mallas, colocados en una fiola de 250 cc de capacidad, se le agregaron 100 ml de una solución de  $\text{CaCl}_2$  0.01 M que contiene 20 ppm de fósforo en forma de  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . A cada muestra se le añadió dos gotas de cloroformo para inhibir la actividad microbiana y se colocaron en un agitador mecánico durante 5 minutos dos veces diarias y a una temperatura constante de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ . A diferentes tiempos, se procedió a filtrar y determinar el fósforo en el extracto.

### Construcción de las isotermas de adsorción

A 5 g de suelo, colocados en una fiola de 250 cc de capacidad, se le agregaron 50 ml de una solución de  $\text{CaCl}_2$  0.01 M que contenía diferentes cantidades de  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \text{H}_2\text{O}$ . La dosis de P añadido corresponde a enmiendas de fertilizantes de uso común en agricultura intensiva (50-1 000 ppm). Se les añadió 2 gotas de cloroformo y se procedió a agitar las muestras 5 minutos (dos veces diarias) durante el tiempo definido en el punto anterior. La reacción de adsorción se realizó a una temperatura de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ . Luego se filtraron las muestras y se determinó el fósforo del extracto (método I, Jackson, 12). La representación gráfica de los datos se hizo: 1) utilizando el modelo de Langmuir; a partir de la misma representación también se calcularon los valores  $X_m$  (capacidad máxima de adsorción) y  $K$  (constante de adsorción) y 2) se usó el modelo de adsorción de Temkin ( $x$  vs  $\ln c$ ). Tanto el tiempo de equilibrio como las isotermas de adsorción fueron paralelamente determinadas (con fines comparativos), utilizando como fuente de fosfato  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

### Efecto de la temperatura sobre la adsorción de fosfatos

Muestras de Uracoa y Majomal fueron equilibradas con 10 ppm de P. La reacción de adsorción fue efectuada a diferentes temperaturas (5, 20, 30 y  $40^\circ\text{C}$ ), siguiendo la metodología antes descrita.

### Literatura citada

1. BACHE, B. W. Practical implications of Quantity-Intensity relationships Proceedings International Seminar Soil Environment Fertilizing Management International Agricultural (SEFIMA). Tokyo: 777-787. 1977.
2. BOUYOUCOS, G. T. Directions for making mechanical analysis of soils by the hidrometer method. *Soil Science*. 42:225-228. 1936.
3. COFFIN, D. E. A method for the determination of free iron in soils and clays. *Canadian Journal of Soil Science*. 43:7-17. 1963.
4. DATTA, N. P. y SRIVASTAVA, S. C. Some factors involved in the availability of adsorbed phosphate. *Indian Journal of Agricultural Science*. 71:359-364. 1963.
5. FOX, R. L., PLUCKNETT, D. and WHITNEY, A. S. Phosphate requirements of Hawaiian latosols and residual effects of fertilizer phosphorus. In: *International Congress of Soil Science, Transactions 9th* (Adelaide, Aust.) v. 2, pp 301-310. 1968.
6. FOX, R. L., NISHIMOTO, R. K., THOMPSON, J. R. and DeLa PENA, R. S. Comparative external phosphorus requirements of plants growing in tropical soils. *International Congress of Soil Science, Moscow, Communication IV*:232-239. 1974.
7. FOX, R. L., and KAMPRATH, E. J. Phosphate sorption isotherms for evaluating the phosphate requirements of soil. *Soil Science Society of America Proceedings*. 34:902-907. 1970.
8. GARDNER, B. and PRESTON, J. Effects of temperature on phosphate sorption isotherms and phosphate desorption. *Soil Science and Plant. Anal.* 4:83-93. 1973.
9. GUNARY, D. A new adsorption isotherm for phosphate in soils. *Journal of Soil Science* 21:72-77. 1970.
10. HESSE, P. R. *Chemical Analysis*. John Murray Publishers Ltd., 1971.
11. HEMWALL, J. B. The fixation of phosphorus in soils. *Advances in Agronomy*. 9:95-112. 1957.
12. JACKSON, M. L. *Análisis químico de los suelos*, 2 ed. Madrid. Omega, 1970.
13. LARSEN, S. Soil phosphorus. *Advances in Agronomy* 19:151-210. 1967.
14. LEVESQUE, M. and SCHNITZER, M. Organometallic interactions in soils. 6. Preparation and properties of fulvic acid metal phosphates. *Soil Science* 103:183-190. 1967.
15. LOPEZ-HERNANDEZ, D. and BURNHAM, C. P. The covariance of phosphate sorption with other soil properties in some British and tropical soils. *Journal of Soil Science* 25(2):196-206. 1974
16. LOPEZ-HERNANDEZ, D. and BURNHAM, C. P. The effect of pH on phosphate sorption in soils. *Journal of Soil Science* 25(2):2-16. 1974.

17. LOPEZ-HERNANDEZ, D. La química del fósforo en suelos ácidos. Maracay, Universidad Central de Venezuela, Biblioteca, 1977. 123 p.
18. LOPEZ-HERNANDEZ, D., ALVAREZ, L. and POLANCO, M. Phosphate requirement for *Vigna unguiculata* L. var. Tuy growing in two contrasting Venezuelan soils. Proceedings International Seminars Soil Environment Fertilization Management International Agricultural (SEFMIA). Tokyo, 1977, pp. 517-524.
19. LOPEZ-HERNANDEZ, D. y FLORES AGUILAR, D. La desorción de fosfatos en suelos. Implicaciones fisioecológicas en el proceso. Acta Científica Venezolana 30:23-35. 1979.
20. LOPEZ-HERNANDEZ, D., FLORES, D., SIEGERT, D. and RODRIGUEZ, J. V. The effect of some organic anions on phosphate removal from acid and calcareous soils. Soil Science. 128:321-326. 1979.
21. MULJADI, D., POSNER, A. M. and QUIRK, J. P. The mechanism of phosphate adsorption by kaolinite, gibbsite and pseudoboehmite III. The effect of temperature on adsorption. Journal of Soil Science. 17:238-247. 1966.
22. NAGARAJAH, S., POSNER, A. M. and QUIRK, J. P. Desorption of phosphate from kaolinite by citrate and bicarbonate. Soil Science Society of America Proceedings 32:507-510. 1968.
23. OLSEN, S. R. and WATANABE, F. S. A method to determine a phosphorus adsorption maximum of soils as measured by the Langmuir isotherm. Soil Science Society of America Proceedings. 21:144-149. 1957.
24. OZANNE, P. C. and SHAW, T. C. Advantages of the recently developed phosphate sorption test over the older extractant methods for soil phosphate. In International Congress Soil Science, Transactions 9 th (Adelaide, Aust.) V. 2, pp. 273-280. 1968.
25. RAJAN, S. S. and FOX, R. L. Phosphate adsorption by soil. II. Reactions in tropical acid soils. Soil Science Society of America Proceedings 39:849-851. 1975.
26. SHUMWAY, J. S. and JONES, J. P. Boron sorption isotherm. A method to estimate fertilizer requirement. Comm. in Soil Science and Plant Anal. 3:477-485. 1972.
27. SINGH, B. B. and JONES, J. P. Use of sorption isotherm for evaluating potassium requirements of plants. Soil Science Society of America Proceedings 39:881-886. 1975
28. SYERS, J. K., BROWMAN, M. G., SMILLIE, G. W. and COREY, R. B. Phosphate sorption by soils evaluated by the Langmuir adsorption equation. Soil Science Society of America Proceedings 37:358-363. 1973.
29. WEIR, C. C. and SOPER, R. J. Interaction of phosphates with ferric organic complexes. Canadian Journal of Soil Science. 43:393-399. 1963.
30. WILLIAMS, E. G. Influences of parent material and drainage conditions on soil phosphorus relationships. Agrochimica 3:279-309. 1959.

## NOTAS Y COMENTARIOS

Clinicas de diagnóstico fitosanitario forestal en Chile.

La experiencia ha demostrado que el control de plagas y enfermedades forestales, escapa a los cánones generales establecidos en los cultivos agronómicos, especialmente por la longevidad, desarrollo alcanzado y superficie de los cultivos forestales. Estas características particulares han determinado que en Chile se reconozca cada día un rol de mayor importancia a las medidas de carácter preventivo dentro del manejo forestal.

Gracias a los esfuerzos desplegados a través de la planificación de medidas preventivas por las Universidades y la Corporación Nacional Forestal, es posible afirmar que en la actualidad no existen problemas fitosanitarios relevantes en Chile.

La preocupación de proteger los recursos forestales en Chile se remonta a varias décadas, pero sólo en 1977, la Corporación Nacional Forestal (CONAF) en estrecha colaboración con las Universidades de Chile, Concepción y Austral, logró que el Proyecto de Investigación y Desarrollo Forestal CONAF/FAO/PNUD/CHI/76/003, incluyese dentro de sus actividades de desarrollo un Programa Nacional para la detección, evaluación y control de enfermedades y plagas forestales.

Dicho Programa comprende las nuevas plantaciones y el bosque nativo y dirige sus actividades a la detección, evaluación biológica y económica, y también al establecimiento de las medidas de control más adecuadas.

El cumplimiento de estas actividades, se lleva a cabo mediante dos instancias, la primera es una estructura funcional de la Corporación Nacional Fores-

tal, que considera un Coordinador Nacional dependiente directamente del Departamento de Protección en la Sede de la Corporación y Coordinadores Regionales en las principales regiones forestales del país. La segunda instancia actúa en forma coordinada con el esquema anterior y está constituida por tres "Clinicas de Diagnóstico" que pertenecen a las Universidades de Chile, Concepción y Austral, respectivamente.

Las Clinicas de Diagnóstico cumplen tres objetivos fundamentales:

- Identificar las enfermedades y plagas forestales.
- Registrar informes de ocurrencia.
- Proponer medidas de control y encauzar proyectos de investigación a través de la Corporación Nacional Forestal y Empresas Particulares.

El envío de muestras a las "Clinicas de Diagnóstico" se canaliza a través de los Coordinadores Regionales o cualquier persona particular que detecte algún problema fitosanitario en el bosque.

La creación de estas estructuras de protección fitosanitaria, se encuentra avalada por dos razones íntimamente ligadas:

- 1 En Chile, en los últimos decenios, la producción de madera aserrada y fibra se ha basado fundamentalmente en plantaciones de *Pinus radiata* D. Don, permitiendo el incremento y desarrollo de las industrias de madera y celulosa con alta dependencia de una especie.
2. La superficie actual de plantación de *Pinus radiata*, es de aproximadamente 637 000 hectáreas distribuidas entre las V y X regiones del país, las cuales, con una tasa anual de plantación de 70 000 hectáreas, alcanzarían para fines de siglo un total estimado de 1.2 a 1.4 millones de hectáreas.

Ello explica que Chile haya dado especial importancia al establecimiento de tales mecanismos de protección de enfermedades y plagas forestales.

USO DE LA ISOTERMA DE ADSORCION PARA EVALUAR  
REQUERIMIENTOS DE FOSFORO. II. DETERMINACION CON BASE  
EN LOS DATOS DE ADSORCION, DEL REQUERIMIENTO EXTERNO DE P  
PARA *Vigna unguiculata* L. VAR. TUY<sup>1/</sup>

---

DANILO LOPEZ-HERNADEZ\*

I. CORONEL\*

L. ALVAREZ\*

### Abstract

*The external phosphorus requirement for Vigna unguiculata L. var. Tuy (Frijol bayo) was determined in pot and field experiments. The chosen soils were corrected for macro and micro-nutrients deficiencies using the corresponding elements and lime. Although this correction was made, the pot-yield obtained differed from soil to soil, therefore it could be concluded that other factor(s), apart from P, is controlling the production.*

*A maximum production was obtained, in all the cases (except Uracoa series), at P equilibrium in the soil solution corresponding nearly to 1.0 ppm. This last value could be adscribed as the P requirement in the green-house experiment. As expected, this value decreased significantly (0.6 ppm) when the experiments were conducted in field conditions. The phosphorus requirements for each soil studied are presented*

### Introducción

**L**os requerimientos de las especies vegetales pueden ser determinados, ya sea mediante soluciones nutritivas (1) o realizando la investigación directamente con plantas que crezcan en su soporte natural (ensayos con potes o en invernadero) (4, 5, 8). En el primer caso, el parámetro involucrado en la experimentación es el llamado factor I y es una condición *sine qua non* que ocurra un suministro constante de nutrientes una vez que éstos son retirados de la solución; tal condición se logra mediante una renovación continua de la solución nutritiva. En el caso de ensayos en suelos, la interrelación entre los factores I y Q es la que determina un "adecuado"

suministro del nutriente; claro está que esta situación dependerá de un conjunto de factores, entre los que se destacan: el tipo de cultivo, la edad del mismo, el tipo de suelo y otros (6, 9). En el caso específico de la nutrición con fosfatos, la determinación de su requerimiento (para un cultivo dado) es una operación factible de ejecutar, siempre y cuando se realicen experimentos controlados. En los mismos, se debe mantener, además de una variación creciente en las dosis de P aplicado, y en la medida posible, una máxima constancia en las diferentes condiciones que afectan el rendimiento vegetal. Así, si se conoce el requerimiento externo de P para la especie (factor I), la cantidad precisa de fertilizante que se debe añadir a diferentes suelos para alcanzar este requerimiento, puede ser determinada a partir de sus correspondientes isotermas de adsorción (5, 8).

Los requerimientos de fosfato varían ampliamente entre las distintas especies; en soluciones nutritivas Asher y Loneragan (1) señalan, para varias plantas, los "óptimos" de producción entre 0.3 y 0.7 ppm de P. Por otra parte, Fox *et al.*, (5) obtuvieron 95 por ciento de la producción máxima para *Ipomea batatas* con concentraciones de P en la solución de

<sup>1</sup> Recibido para publicación el 20 de marzo de 1980. Se agradece la ayuda del Dr J. San José en el diseño del experimento conducido en la Estación Biológica de los Llanos (Calabozo, Estado Guárico, Venezuela)

\* Laboratorio de Estudios Ambientales Instituto de Zoología Tropical Facultad de Ciencias Universidad Central de Venezuela

equilibrio de 0.1 ppm; estos mismos autores señalan 0.2 ppm y 0.4 ppm como los requerimientos externos de P para *Desmodium apacines* y *Lactuca sativa*, respectivamente.

Es importante señalar que los requerimientos de P para un cultivo pueden variar dependiendo de los distintos estados de crecimiento, así como del tamaño y distribución del sistema radical. De esta manera, se ha encontrado (2, 7, 10) que, para un gran número de suelos, la concentración de P en solución se correlaciona bastante bien con el crecimiento inicial, pero no con la toma total de P, dependiendo más este último proceso del factor cantidad (Q). Ensayos con maíz (5) muestran que la planta necesita 0.2 ppm de P en la solución del suelo para un crecimiento máximo en las fases tempranas de desarrollo, pero 0.06 ppm son suficientes para alcanzar un 95 por ciento de la máxima producción de granos.

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar el "requerimiento externo de fósforo" del frijol bayo var. Tuy *Vigna unguiculata* L. en condiciones de invernadero y campo. La predicción de las dosis de fertilizante fosfatado para seis suelos venezolanos será evaluada utilizando la técnica de las isotermas de adsorción.

#### Materiales y métodos

En la primera contribución de esta serie (9) aparecen detallados: i) la descripción de los suelos utilizados; ii) la metodología empleada para su caracterización química y iii) los análisis de las reacciones de adsorción de las muestras.

**Cultivo Experimental:** Para los ensayos de invernadero y campo se utilizó el frijol bayo var. Tuy *Vigna unguiculata* L. descrito por Barrios y Ortega (3).

**Ensayo de Invernadero:** Muestras secadas al aire y pasadas por un tamiz de 2 mm fueron colocadas (3 kg) para cada tratamiento (por triplicado) en bolsas negras de polietileno de 5 litros de capacidad. Cada suelo fue encalado con CaCO<sub>3</sub> de acuerdo con sus requerimientos (9) mezclando íntimamente y agregando agua hasta capacidad de campo. Después de dos semanas, se agregó a cada suelo diferentes cantidades de fósforo (en forma de Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> H<sub>2</sub>O). Esta adición se hizo de acuerdo con las respectivas isotermas de adsorción, de tal manera que las concentraciones de P en la solución de equilibrio (factor I) oscilan entre 0.025 y 10 ppm (Cuadro 2). Además de los tratamientos mencionados, hubo un tratamiento testigo al cual no se le añadió fosfato. Los suelos tratados con las soluciones de fosfato de calcio fueron mantenidos a capacidad de campo durante 6 días, mezclándose diariamente. Finalmente, semillas de *V. unguiculata* L. fueron sembradas para cada tratamiento en número tal que asegurara el desarrollo de 4 plántulas. Paralelamente a la siembra, se añadió N, K y micronutrientos en cantidades consideradas suficientes para corregir cualquier deficiencia (Cuadro 1). Durante toda la etapa de crecimiento, los suelos fueron mantenidos, por diferencia de peso, a capacidad de campo regando diariamente con agua destilada.

Los cultivos fueron cosechados a las 6 semanas después de la siembra, procediéndose luego a determinar la producción de materia seca. El peso seco fue determinado luego de desecar los tejidos en una estufa a 80°C durante 48 horas.

**Ensayo de campo:** En un terreno arado previamente se demarcaron 36 parcelas experimentales de 4 m<sup>2</sup> cada una, separadas entre sí por 1 m. Cada parcela estaba demarcada a su vez por cuatro surcos, con 50 cm de separación, en los cuales se sembrarían 3 semillas por orificio, ubicado cada uno a 15 cm a lo largo de cada surco. Se establecieron las dosis de fósforo de la misma manera que para el ensayo de invernadero; cada tratamiento por sextuplicado en parcelas ubicadas al azar en el terreno de siembra (cuadrado latino). Debido a las grandes cantidades de Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> H<sub>2</sub>O requerida para la realización de este tipo de experimento y a su elevado costo, se hizo necesaria la utilización de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> como fertilizante fosfatado. Este hecho condujo a una nueva determinación de los requerimientos de encalado para los suelos que serían sometidos a las distintas dosis de fertilizante.

Cuadro 1. Dosis de macro y micronutrientos agregados a los suelos.

Nutriente	Fertilizante	mg de Fert/pote
Boro	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1.4
Cobre	CuSO <sub>4</sub>	4.0
Manganese*	MnSO <sub>4</sub>	11.0
Zinc	ZnCl <sub>2</sub>	12.0
Hierro	FeSO <sub>4</sub>	14.0
Magnesio	MgSO <sub>4</sub>	14.0
Nitrógeno	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	600.0
Potasio*	KCl	200.0

\* No fueron añadidos a las muestras del suelo Majomal.

Cuadro 2. Valores promedio de peso seco total (raíz + tallos + hojas) de *Vigna unguiculata* L. con relación a los niveles de fósforo en la solución de suelo.

Suelo	Dosis P μg/g	P equilibrio ppm	Peso seco g/pote	Suelo	Dosis P μg/g	P equilibrio ppm	Peso seco g/pote
UVERITO	0	0.06	8.66	BANCO	0	0.03	3.44
	30	0.25	11.40		70	0.23	4.48
	40	0.57	15.48		150	0.40	6.15
	60	1.00	18.57		200	1.21	7.23
	80	3.22	19.34		250	3.00	7.50
	150	5.10	18.66		300	4.80	7.65
CALABOZO	0	0.03	5.36	MAJOMAL*	0	0.08	3.93
	40	0.24	10.19		100	0.20	6.63
	60	0.49	10.99		200	0.32	7.70
	80	1.15	12.62		400	0.96	10.26
	120	3.60	11.89		600	2.22	10.60
	150	4.80	12.72		800	4.72	11.50
TAMACA	0	0.05	3.91	URACOA	1.000	7.96	10.68
	70	0.18	7.39		1.200	10.40	11.55
	150	0.54	7.70		0	0.00	2.19
	200	1.14	9.46		40	0.06	1.98
	400	3.00	9.25		100	0.34	2.01
	450	5.00	10.07		200	1.68	3.64
					320	3.64	3.76
					400	6.40	4.80
					500	9.27	4.73

\* Datos de parte aérea (tallos + hojas)

Una vez que cada parcela fue encalada de acuerdo con sus nuevos requerimientos, se agregó las 5 dosis de fertilizante fosfatado, así como la dosis de N, K y micronutrientos en cantidades consideradas suficientes para corregir cualquier deficiencia. Una semana después se realizó la siembra.

La cosecha en granos para cada parcela fue recolectada 2 meses después de la siembra, y se determinó el peso de los granos.

### Resultados y discusión

La producción de materia seca total por pote (raíz + tallo + hojas) de *V. unguiculata* L. como una función del log. de la concentración de P en la solución de equilibrio se presenta en la Figura 1. Dicha figura ofrece información para todos los suelos analizados exceptuando la obtenida para el suelo Majomal. Para este suelo los resultados se presentan en la Figura 2, (únicamente la producción aérea de las plantas); igualmente, el Cuadro 2 da una información más detallada del fenómeno. En el Cuadro 2 se observa

que hay una clara respuesta del frijol a las adiciones progresivas de fosfatos. Tal respuesta (para las primeras adiciones) es más notoria en el caso de los suelos: Majomal, Calabozo y Tamaca. De menor cuantía para los suelos Banco y Uverito e inexistente en el caso de la Serie Uracoa. Los niveles de fósforo incorporado al suelo no fueron los mismos en todos los casos y su definición fue dada por las características de retención de cada suelo (9). Así, para la Serie Majomal, altamente retentiva de fosfatos, se añadieron dosis comprendidas entre 100-1.200 μg/g. Para suelos con capacidades de retención moderadas, como es el caso de los suelos Tamaca y Uracoa, las adiciones fueron del orden de 40-500 μg/g, y finalmente para los suelos de muy baja capacidad de adsorción de aniones, las enmiendas fosfatadas fueron menores: de 70-300 μg/g para el suelo Banco, y de 30-150 para los suelos Uverito y Calabozo. Las dosis de fósforo incorporadas al suelo generaron niveles de P en equilibrio del orden de 0.03-5.10 ppm en los suelos Uverito, Calabozo, Tamaca y Banco; mientras que para la Serie Majomal y Uracoa el nivel de P equilibrio estuvo comprendido entre 0.00-10.40 ppm (Cuadro 2). Las Figuras 1 y 2 mues-

tran claramente que para todos los suelos estudiados (exceptuando la Serie Uracoa) se obtiene entre un 90-95 por ciento de la producción máxima cuando la concentración de fósforo en la solución de equilibrio alcanza valores cercanos a 1 ppm. También se observa en la Figura 1 que hay diferencias notables en la producción obtenida para los distintos suelos analizados, un hecho que sugiere que factores adicionales, además del suministro de fósforo, influyeron en forma significativa en el desarrollo del cultivo. Cabe señalar entre otros factores la textura y disponibilidad de macro y micronutrientes. El diseño experimental fue planificado con el objeto de minimizar estos parámetros; sin embargo, y la información obteni-

da lo confirma, es muy difícil poder realizar un efectivo control de todas las variables. El hecho de que el experimento fue conducido en un invernadero, en donde se mantuvieron constantes las condiciones microclimáticas, y que además se acostumbraba hacer rotaciones periódicas de las repeticiones colocadas en las mesas experimentales, nos permite señalar que la variación debida a las condiciones climáticas son de orden menor, pudiendo por lo tanto atribuirse las diferencias en el rendimiento vegetal a factores principalmente nutrimentales y/o texturales. Lo cierto es que, no obstante que hubo diferencias en cuanto a la respuesta de la planta a la adición de fertilizantes, la producción máxima se mantuvo en concentraciones

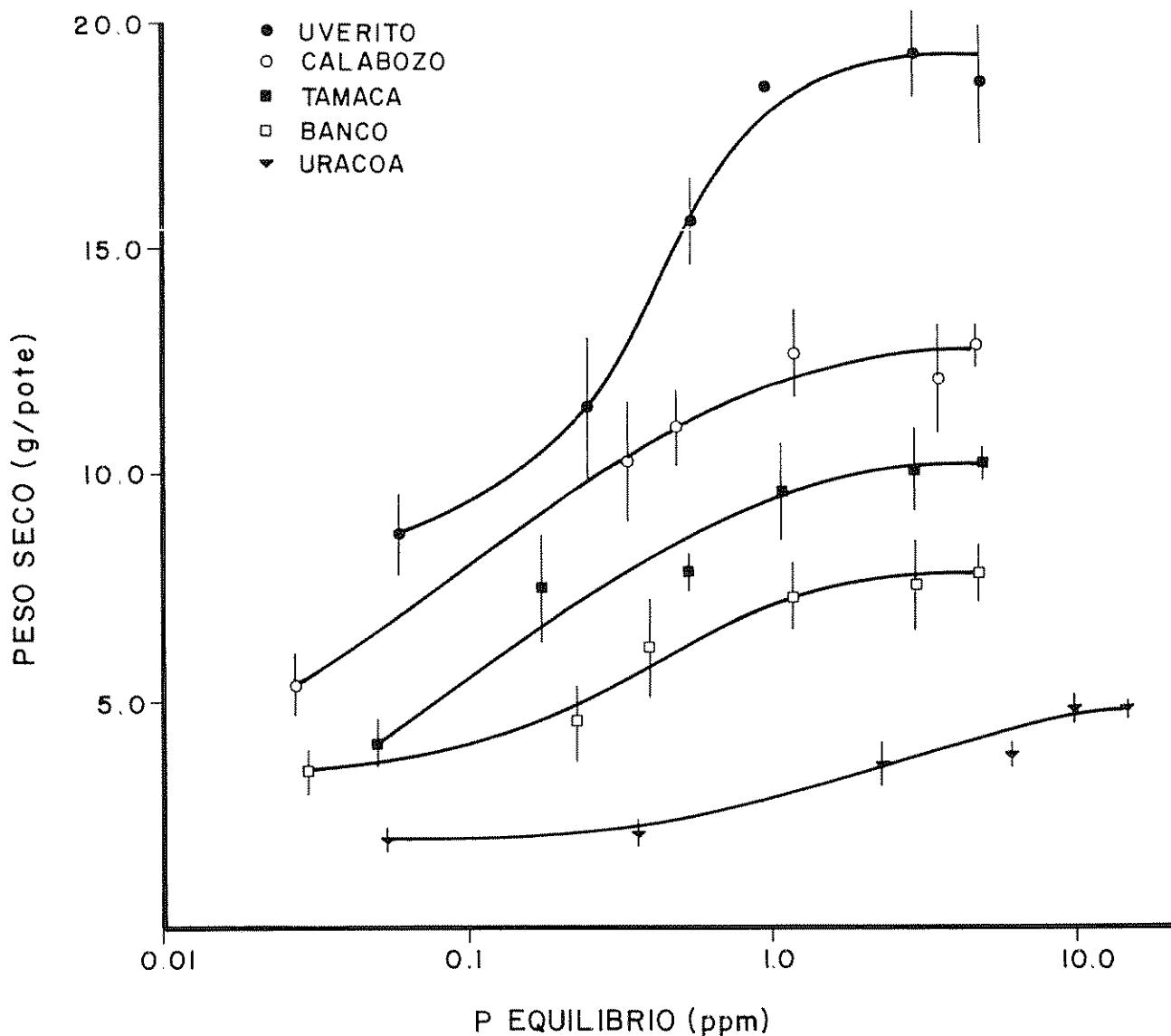


Fig. 1. Producción de materia seca total de *Vigna unguiculata* L. En relación a los niveles de P en la solución de equilibrio

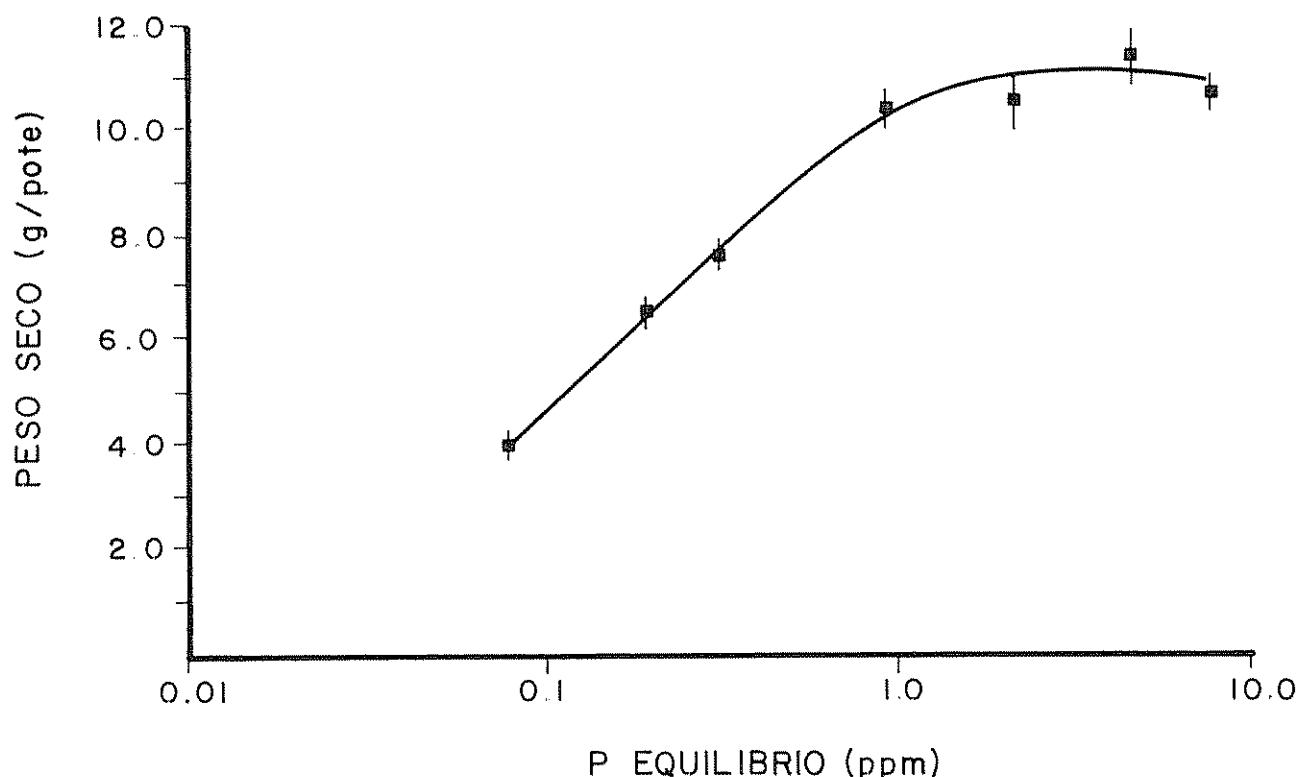


Fig. 2. Producción de materia seca aérea de *Vigna unguiculata* L. en relación a los niveles de P en la solución de equilibrio (Serie Majomal)

de P equilibrio que oscilaban alrededor de 1 ppm. Tal información señala que este valor es el llamado requerimiento externo de P para *Vigna unguiculata* L. var. Tuy cuando la especie crece en condiciones de invernadero. La constancia en la producción alrededor de este valor señala también que ésta es una propiedad inherente a la variedad de frijol estudiado y que aparentemente es independiente del tipo de suelo en que se conduzca el experimento.

En cuanto al rendimiento obtenido para el suelo Uracoa (Figura 1), se observa que el valor máximo de producción, por cierto muy por debajo del obtenido en los otros suelos, se alcanza en valores de P equilibrio superiores a 6 ppm. Es bastante factible que en el caso de este suelo, otro factor (y no el fósforo) es limitante a la producción; a dicho suelo se le añadieron dosis de macro y micronutrientos para corregir cualquier deficiencia (Cuadro 1), lo que no descarta la posibilidad de que alternativamente se pudiese presentar en esta Serie, el efecto tóxico de algún elemento no identificado. Sin género de dudas, el ensayo con Uracoa amerita un estudio más profundo. Fox y Kamprath (6) señalan para el mijo (*Pennisetum tephoides* var. Gahi-1) un resultado similar; así, ellos consignan que para un suelo de

turberas (con muy baja capacidad de retención de P) hay un requerimiento externo superior a 16.2 ppm de P, atribuyéndose el hecho a que, a falta de P disponible en el sistema, debe haber una alta proporción de éste en la solución del suelo. La comparación con el suelo Uracoa, sin embargo, no es del todo posible, ya que si bien el suelo no retiene P en alta proporción, por lo menos lo hace en una mayor cuantía que v.g. el suelo Uverito en donde no se presentó el mismo fenómeno [ver (9) y Cuadro 2].

**Ensayo de campo:** El valor I obtenido para la producción máxima de frijol es 10 ppm siendo este valor significativamente superior al anotado en la literatura para *Lactuca sativa* 0.4 ppm (4) y muy por encima del obtenido para mijo creciendo en potes [0.2 ppm (5)]. En la Figura 3 y en el Cuadro 3 se presenta la producción en granos de *V. unguiculata* L. para el ensayo de campo realizado en Calabozo. Se observa en la misma figura una respuesta marcada del frijol a las dos primeras dosis de ácido fosfórico (50 y 75 mg/g respectivamente), pero también es notorio, que a partir del tratamiento de 150 kg/ha no se incrementa la producción de granos. A la luz de estos resultados es concluyente que bajo las condiciones más naturales del cultivo en el campo, se dismi-

nuye sensiblemente el requerimiento externo del frijol bayo de 1.0 ppm bajo cultivo en invernadero a 0.6 ppm (Figura 3 y Cuadro 3). Indudablemente que la mayor explotación del medio ambiente que efectúa el sistema radical y el libre desarrollo del mismo, influyen notablemente en la bondad de este resultado. También es conveniente añadir, que si bien se obtuvo un "óptimo" de producción con 150 kg/ha, este valor hubiese sido menor si en lugar de suministrar el P como fertilizante líquido hubiese sido añadido en forma sólida y aplicado en forma de bandas. El uso de  $H_3PO_4$  como fertilizante no es de práctica común; en el trabajo descrito sólo se le utilizó con el fin de reducir el costo del fertilizante.

#### Requerimiento de fertilizante de los diferentes suelos usados

Si partimos del supuesto que una concentración de P en la solución del suelo alrededor de 1 ppm es suficiente para obtener un "óptimo" de producción en la especie estudiada (*Vigna unguiculata* L. var. Tuy), y de que este requerimiento de P puede ser menor (0.6 ppm) cuando la especie crece en condiciones de campo, estamos en condiciones de señalar, con

una cierta precisión, los requerimientos en fertilizante de estos suelos. El Cuadro 4 presenta esa información; en la misma se definen dosis de 120 a 140 kg/ha para suelos con muy baja capacidad de retención de P (Suelo Uverito y Calabozo respectivamente), de 400 kg/ha para los suelos Banco y Tamaca y de 800 kg/ha para la serie Majomal. Naturalmente que si estas dosis se redefinieran de acuerdo con la corrección introducida en el ensayo de campo, las recomendaciones a emplear serían considerablemente menores, tal y como se presenta en el mismo cuadro. Las dosis aquí anotadas son altas en el caso de algunos suelos (Majomal y Tamaca); mientras que los valores son agronómicamente convenientes en otros casos (por ejemplo: Uverito y Calabozo). De cualquier forma, los valores son bastante inferiores a los señalados por Fox *et al.* (5) en suelos tropicales de Hawaii caracterizados por una alta capacidad de retención de P. Es muy posible que estos requerimientos disminuyan: i) si la fertilización se hace con fuentes sólidas y en bandas, ii) si el encalado se realiza con mayor anticipación permitiéndose, así, una mayor neutralización de la acidez y, por ende, de las superficies retentivas del fósforo. Bajo esta perspectiva final, y tomando en consideración que la adición de P a los suelos se hace comúnmente en forma de ban-

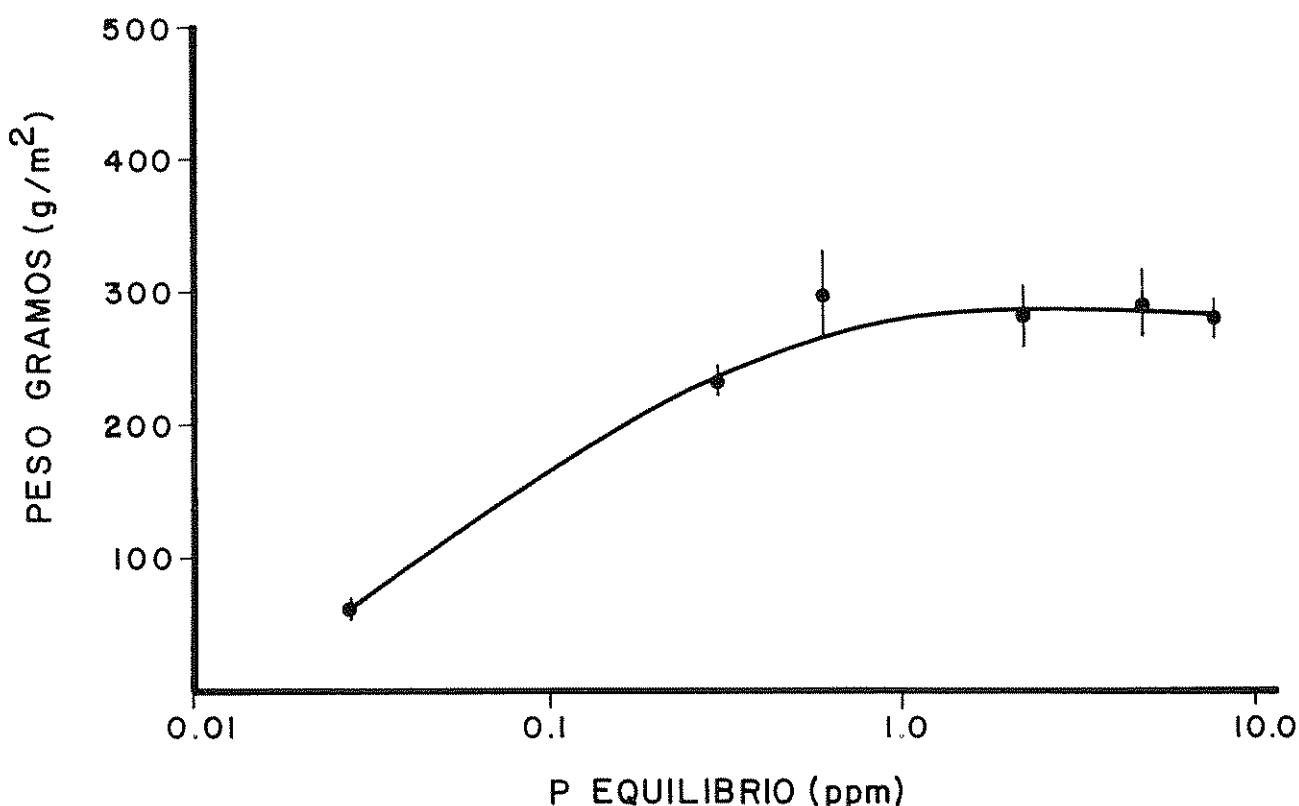


Fig. 3. Producción de Granos de *Vigna unguiculata* L. En relación a los niveles de P en la solución de equilibrio (Suelo Calabozo).

Cuadro 3. Rendimiento promedio de granos y porcentajes de producción para *Vigna unguiculata* L. var. Tuy con relación a los niveles de P en la solución de equilibrio. Ensayo de campo realizado en Calabozo (Edo. Guárico).

Dosis de P kg/ha	P equilibrio ppm	Peso granos g/m <sup>2</sup>	Peso granos kg/ha	Desviación Estándar	% Producción
0	0.02	62.8	627.6	19.6	20.8
100	0.37	243.8	2437.8	54.6	80.9
150	0.60	301.2	3012.1	125.6	100
200	2.20	281.1	2810.6	103.3	93.3
300	4.80	290.5	2905.0	77.5	96.5
400	7.60	277.9	2779.0	61.1	92.3

das, podemos hacer énfasis en que los valores recomendados por el método de las isotermas no se aparta sustancialmente de las dosis de fertilizantes comúnmente señaladas para suelos y cultivos tropicales. Tiene además, el método, la ventaja de poder asignar un valor más preciso a la dosis recomendada en kg/ha

requerimiento externo fue significativamente menor (0.6 ppm P) cuando el ensayo se condujo en las condiciones más naturales de cultivo en el campo. Se presentan las dosis de fertilizantes fosforados que se necesitan para lograr un "óptimo" de producción de frijol bayo con cada uno de los suelos usados

### Resumen

Se determinó el requerimiento externo de fósforo para el frijol bayo *Vigna unguiculata* L. var. Tuy, en condiciones de campo y de invernadero. A los suelos escogidos se les corrigieron las posibles deficiencias de macro y micronutrientos mediante dosis convenientes de los diferentes elementos y de cal. No obstante las correcciones introducidas, la producción obtenida en los ensayos de invernadero disirió de un suelo a otro, hecho que indica que otro(s) factor(es) además del fósforo controlan la producción. Sin embargo, el rendimiento máximo en todos los suelos (excepto la serie Uracoa) se obtuvo con dosis de fertilizantes que generaban alrededor de 1 ppm de P en equilibrio, lo que indica que este valor es el llamado requerimiento externo de P para la especie. Este mismo

### Literatura citada

1. ASHER, C. J. y LONERAGAN, J. F. Response of plants to phosphate concentration in solution culture I. Growth and phosphorus content. *Soil Science* 103:225-233. 1967.
2. BALDWIN, J. P. A quantitative analysis of the factors affecting plant nutrient uptake from soils. *Journal of Soil Science* 26:196-206. 1975.
3. BARRIOS, A. y ORTEGA, Y. Tuy: Nuevo cultivar de frijol bayo *Vigna unguiculata* L. *Agronomía Tropical*. 25:103-106. 1975.

Cuadro 4. Porcentaje de producción de *Vigna unguiculata* L. con relación a la dosis de P requerida para alcanzar una concentración de P en la solución de equilibrio alrededor de 1 ppm. Los datos en paréntesis corresponden a la corrección para 0.6 ppm de P en equilibrio.

Suelo	P equilibrio ppm	ppm	kg/ha	Dosis recomendada ppm	kg/ha	% Producción
BANCO	1.21	200	400	(175)	(350)	95
UVIRITO	1.00	60	120	(40)	(80)	96
CALABOZO	1.15	80	160	(70)	(140)	94
TAMACA	1.14	200	400	(150)	(300)	94
MAJOMAL	0.96	400	800	(300)	(600)	90
URACOA	1.00	175	350	(150)	(300)	70

4. FOX, R. L. y KAMPRATH, J. E. Phosphate sorption isotherms for evaluating the phosphate requirements of soils. Soil Science Society American Proceedings 34:902-907 1970
5. FOX, R. L., NISHIMOTO, R. K., THOMPSON, J. R. y PENA de La, R. S. Comparative external phosphorus requirements of plant growing in tropical soils. International Congress Soil Science Moscow Comm. IV:232-239. 1974.
6. FRIED, M. y BROESHART, H. The soil plant system in relation to inorganic nutrition Academic Press, New York. 1969
7. HOLFORD, I. C. R. y MATTINGLY, G. E. G. Phosphate adsorption and plant availability of phosphate. Plant and Soil. 44:377-389 1976.
8. LOPEZ HERNANDEZ, D., ALVAREZ, L. y POLANCO, M. Phosphate requirements for *Vigna unguiculata* L. var. Tuy growing in two contrasting Venezuelan soils. Proceedings International Seminary Soil Environmental Fertilization Manager International Agriculture. Tokyo, Japón 517:524 1977.
9. LOPEZ-HERNANDEZ, D. L., CORONEL, I. y ALVAREZ L. Uso de la Isoterma de Adsorción para evaluar requerimientos de fósforo I. Turrialba 31(3) pp 169-180. 1981
10. WEBBER, M. D. y MATTINGLY, G. E. G. Changes in monocalcium phosphate potentials on cropping. Journal of Soil Science 21:111-120. 1970.

# DESCRIPCION DE INSTARES Y OBSERVACIONES — SOBRE LA BIOLOGIA DEL GUSANO VERDE DEL REPOLLO, *Pieris aripa* BOISDUVAL<sup>1</sup> —

PEDRO JOSE SALINAS\*  
ARMANDO BRICEÑO\*

## Summary

The importance of crucifers and their pests is given, with emphasis on the lepidopterous pests found in Venezuela: *Ascia monuste* L., *Plutella xylostella* L. and *Pieris aripa* Boisduval. Descriptions of the different stages (egg to adult) of *P. aripa* are given with data on dimensions such as head width and body length of the larvae. The life cycle is described in terms of days for each stage. Observations are given on behaviour and natural enemies.

## Introducción

Las crucíferas son plantas, generalmente, de zonas templadas y subtropicales. Las especies cultivadas de esta familia son casi sin excepción de origen europeo, especialmente de la zona del Mediterráneo. Por ser plantas de gran utilidad en la alimentación humana, hoy día se cultivan en todo el mundo, aun en la zona tropical. En el caso de Venezuela, los cultivos se hacen bajo todas las condiciones, desde la zona baja y cálida hasta los páramos, para lo cual existen variedades muy adaptables a las diferentes condiciones ambientales. Al mismo tiempo muchas plagas causan daños entre las que se destacan los lepidópteros tales como *Ascia monuste* L., *Plutella xylostella* L. y *Pieris aripa* Boisduval. Esta última especie, de origen y distribución en la zona neotropical, es la más frecuente en la zona alta, desde los 1 000 m de altitud en adelante. Podría decirse que no hay plantación en la zona alta de los Andes, no sólo venezolana sino en otros países americanos, que no sea atacada por dicha especie, cuyo único control hasta ahora ha sido por métodos químicos.

A pesar de la importancia antes citada de esta especie, es muy poco lo que se ha escrito. Sólo hemos encontrado una publicación que hace referencia a la

descripción, biología, ecología o comportamiento de la especie [Bustillo y Gutiérrez (2)]. Existe mucha literatura referida a *Pieris rapae* L. y *P. brassicae* en Estados Unidos de América y Europa; también para *P. napi* L. en Estados Unidos y Europa, y *P. rapae crucivora* Boisduval en Japón, pero no hay nada, en nuestro conocimiento, que se refiera a *P. aripa*, excepto su mención en Ballou (1), Bustillo y Gutiérrez (2) y Salinas (3).

Por lo antes expuesto nos proponemos presentar en este trabajo una serie de observaciones preliminares, acerca de la especie mencionada *Pieris aripa* Boisduval.

## Observaciones de campo

Las observaciones de campo se realizaron a través de visitas a los productores de crucíferas, en la zona andina. Igualmente se hicieron observaciones en parcelas especiales sembradas para tal fin, en la Estación Experimental "Santa Rosa", del Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Universidad de los Andes, situada en la parte noroeste de la ciudad de Mérida, a unos 1 950 m.s.n.m.

En las visitas de campo, se observaban las especies de crucíferas existentes y la incidencia de plagas, con especial énfasis en *Pieris aripa*. Si existía esta especie se tomaban muestras de huevos, larvas y pupas. Igualmente, se hacían observaciones directas sobre la presencia de predadores, parásitos y enfermedades

1 Recibido para publicación el 2 de junio de 1981.

\* Facultad de Ciencias Forestales Universidad de Los Andes  
Mérida Venezuela

Por otra parte se registraba cualquier tratamiento químico que el agricultor hubiese hecho. Las muestras colectadas se llevaban al laboratorio situado en la Estación Experimental "Santa Rosa", para ser criadas y así observar la presencia de enemigos naturales.

#### Observaciones de laboratorio

Las observaciones de laboratorio se realizaron sobre las muestras traídas del campo y sobre especímenes colectados en las parcelas experimentales mencionadas anteriormente. Las muestras de huevos, larvas y pupas se colocaban en jaulas y frascos de vidrio de un galón de capacidad, con hojas de repollo en el caso de las larvas. Se registraba el sitio y fecha de colección.

Se hicieron anotaciones sobre las características de los diferentes estadios del insecto, así como observaciones de la duración de cada uno de esos estadios.

Para las mediciones de huevos, larvas y adultos se usó un microscopio esteroscópico con accesorios de medición en el ocular, graduado en divisiones de 0.05 mm cada una. Se hicieron varias mediciones de cada estadio para lograr una media y un rango en cada caso.

#### Resultados

##### Descripción de los estadios

**Huevos:** Los huevos fueron puestos en número de 3 a 60 por grupo. Los huevos de esta especie son alargados, con forma de barril o huso con el ápice agudo (Figura 1).

Presentan doce carinas o quillas longitudinales y entre las carinas tienen unas rayas transversales muy unidas entre sí. El corión es transparente, por lo que el color aparente del huevo se debe al contenido embrionario. Al momento de ser puestos y durante poco tiempo después, son de color amarillo brillante. A medida que se desarrollan cambian esa coloración, haciéndose amarillo marronuzcos y luego se tornan de un color amarillo ocre. Antes de eclosionar se hacen más oscuros, quizás a causa de la presencia interna de la larva. El largo promedio observado fue de 1.18 mm (rango 1.00 a 1.35 mm) y el diámetro promedio fue de 0.51 mm (rango 0.45 a 0.55 mm). Son puestos generalmente en hileras bastante regulares en grupos desde unos cuatro o cinco hasta más de cien, aunque lo más común es en grupos de 40 a 50 huevos (Figura 2).



Fig. 1.

##### Larvas

**Primer instar:** Al eclosionar las larvas tienen un largo de unos 3.5 mm, su color es amarillo verdoso, muy claro, casi transparente, pudiendo verse algunos órganos internos. La cabeza esclerotizada es también verde claro. Presenta cuatro setas muy largas y esclerotizadas, color marrón oscuro, en cada segmento abdominal y ocho en los torácicos. A medida que la larva comienza a comer el tejido vegetal, la coloración se hace más verde. El cuerpo es cilíndrico, con el extremo abdominal no agudo. La cabeza es más ancha que el cuerpo y presenta muchas setas de diferentes tamaños (Figura 3).

**Segundo instar:** Es similar en forma. Tiene un ancho de cabeza de 0.65 mm y mide de largo unos 4.6 mm. Presenta una serie de estrías transversales en el dorso, formadas por ondulaciones de la piel, con



Fig. 2.

coloración verde oscura en la parte cóncava o surco de cada ondulación.

Estas marcas se hacen marrón rojizo hacia el final del abdomen. Al igual que el primer instar presenta cuatro setas marrón oscuro en cada segmento abdominal y ocho setas de igual color en los segmentos torácicos. Todas las setas están implantadas en tubérculos de color verde claro. El primer segmento torácico tiene el dorso quitinizado y presenta a ambos lados unas placas con puntos negros. La cabeza es verde claro con muchas setas y las partes bucales son de color marrón (Figura 4).

**Tercer instar:** De forma similar a los instares anteriores. El ancho de la cabeza es de 1.3 mm y el largo de 6.3 mm. Presenta las ondulaciones o estriás transversales más pronunciadas que el instar anterior. La parte alta convexa de las estriás es de color blanco cremoso, allí se encuentran los tubérculos del mismo color, de donde salen las setas. La parte baja o cóncava, presenta la coloración marrón rojiza en forma de



Fig. 3

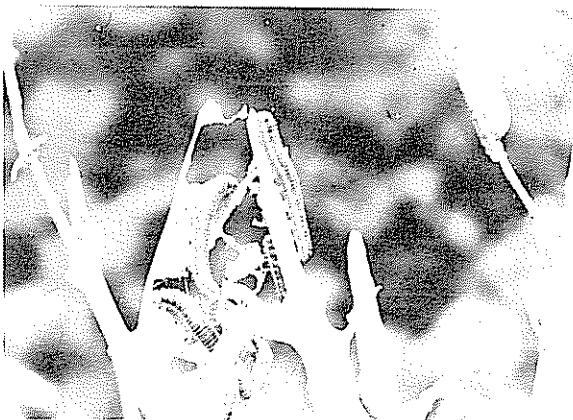


Fig. 4.

franja más ancha que en el caso anterior y contrasta con el color blanquecino de la parte convexa, dando una impresión de anillos (Figura 5).

**Cuarto instar:** También de forma cilíndrica. Cabeza más ancha que el cuerpo. Ancho de la cabeza de unos 2.3 mm y unos 15 mm de largo. Con las estriás mucho más contrastadas que en los instares anteriores. Presenta a los lados, a todo lo largo del cuerpo, una banda amarilla ancha. La cabeza es de color verde claro, pero opaco.

**Quinto instar:** El último instar, es muy similar al anterior. Tiene un largo de unos 25 mm. La coloración general es verde claro, con las bandas laterales, longitudinales, amarillas y las estriás mucho más anchas y contrastadas entre el color banquero y el marrón rojizo. La cabeza es muy esclerotizada, de color verde opaco, y con poderosas mandíbulas que le permiten comer a través de las venas principales (Figura 6).

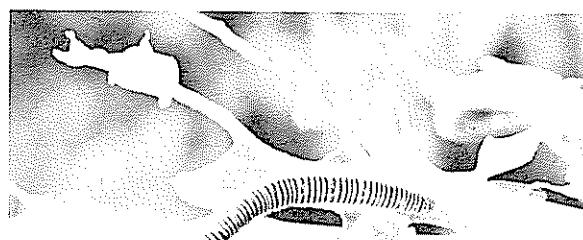


Fig. 5.

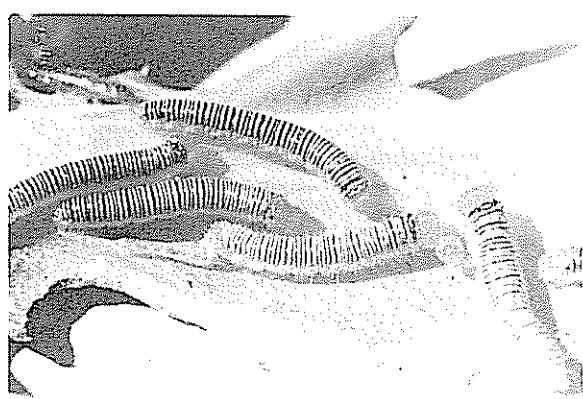


Fig. 6.

**Pupa:** La pupa es del tipo obtecta. Es achatada lateralmente y muy ancha hacia el tórax. Es de color verde claro al comienzo y luego se oscurece un poco. Presenta dos espinas en la parte dorsal del tórax y una serie más, a lo largo del dorso del abdomen. Su longitud es de 18.70 mm, (rango de 16.15 a 22.10 mm) y su ancho es de 3.40 mm (rango de 3.07 a 4.10 mm). Se sostiene mediante un ligamento que une el extremo basal de la pupa a la planta o sustrato donde ocurre la ecdysis. Por la parte del tórax también se observa un anillo de seda que la sostiene en posición vertical y le permite ciertos movimientos, en especial los que hace para defenderse de los predadores. No hay diferencia aparente entre los secos (Figura 6).

**Adulto:** La mariposa tiene una envergadura de 51.4 mm (con un rango de 48 a 54 mm). Las alas anteriores por la parte superior son blanco cremoso, con una banda en el borde apical, marrón oscuro, de forma y ancho variable. En la parte inferior son del mismo color blanco cremoso. El borde costal presenta una línea muy angosta marrón oscuro. Las alas posteriores, en la parte superior, son de color blanco cremoso uniforme, sin bandas; y por la parte inferior son blanco amarillento con una mancha amarilla en la unión con el tórax.

Los adultos son típicos del género *Pieris*, el cual a su vez es el género típico de la Familia Pieridae. Los adultos tienen un par de antenas capitadas. Las hembras se diferencian de los machos, por tener el abdomen un poco más grueso y además presentan un par de valvas fácilmente visibles. El tórax y el abdomen son negros por la parte dorsal y blancos por la parte ventral. La cabeza y las antenas son negras. Las patas son negras por la parte exterior y blancas por la parte interior (Figura 7).



Fig. 7

**Ciclo de vida:** El ciclo de vida, basado en nuestras observaciones, es como sigue:

Huevo:	3 a 4 días
Larva:	10 a 15 días
Pre-pupa:	2 a 3 días
Pupa:	7 a 8 días
Adulto con alimento (solución de miel)	10 a 12 días
Adulto sin alimento	3 a 4 días

**Hábitos de las larvas:** Las larvas al nacer, y durante los primeros instares son gregarias, manteniéndose los grupos grandes al comienzo pero haciéndose menos densos debido a la dispersión desde el lugar de nacimiento.

Las larvas son muy voraces y comen a través de toda la lámina foliar incluyendo las nervaduras, excepto las nervaduras centrales, que por ser muy fuertes no son devoradas por las larvas (Figura 8).

Para protegerse del sol, las larvas se ocultan durante el día, en el envés de las hojas.

Las larvas, igual que en muchas otras especies, regurgitan un líquido verdoso transparente cuando son molestadas.

**Enemigos naturales:** Entre los enemigos naturales más comunes de las larvas, se encuentran las avispas matacaballos, *Polistes versicolor* L. (Hymenoptera: Vespidae) (Figura 9). Igualmente hemos encontrado una chinche sin identificar, de la familia Pentatomidae (Hemiptera), cuyas ninfas y adultos chupan la hemolinfa de las larvas de todo tamaño, así como de las pupas, hasta causarles la muerte (Figura 10).



Fig. 8



Fig. 9.

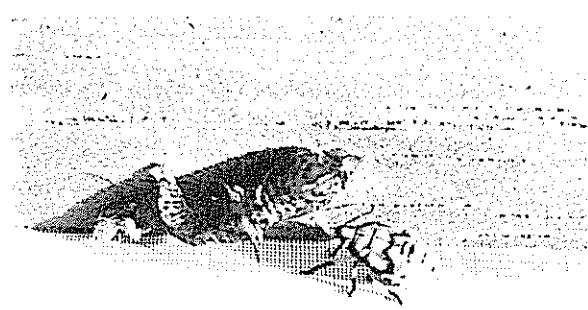


Fig. 10.

### Resumen

Se hace un recuento de la importancia de las crucíferas y sus plagas, destacando para Venezuela a los lepidópteros: *Ascia Monuste* L., *Plutella xylostella* L. y *Pieris aripa* Boisduval. De *P. aripa* se hace la descripción de los diferentes estadios desde huevo hasta adulto, con datos relativos a dimensiones de la cabeza y longitud de las larvas y pupa. Se presentan los datos de duración del ciclo de vida. Se citan observaciones sobre hábitos y enemigos naturales de las larvas.

### Bibliografía

1. BALLOU, C. H. Notas sobre insectos dañinos observados en Venezuela. 1938-1943. III Conferencia Interamericana de Agricultura. Caracas 1945. 151 p.
2. BUSTILLO, A. E. y GUTIERREZ, B. Ciclo de vida del *Leptophobia aripa* (Boisduval) (Lepidoptera: Pieridae) plaga del repollo y la col. Revista Colombiana de Entomología 1(4):1-5. 1975.
3. SALINAS, P. J. Lista preliminar de los insectos observados en algunas hortalizas en Venezuela. VII Reunión Latinoamericana de Fitotecnia. Asociación Latinoamericana de Fitotecnia. Maracay, 1967. 63 p.

## LIBROS DISPONIBLES

ADMINISTRACION DE EMPRESAS ASOCIATIVAS DE PRODUCCION AGROPECUARIA. Héctor Murcia. 1979. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 232 p. Precio US\$ 7.00

ADMINISTRACION DE ORGANIZACIONES AGROPECUARIAS. A. T. Mosher. 1979. Serie Desarrollo Institucional No. 6. Un volumen de 65 p. Precio US\$ 3.50.

COMPENDIO DE MERCADEO DE PRODUCTOS AGROPECUARIOS. Gilberto Mendoza. 1980. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 288 p. Precio US\$ 9.00.

COMUNICACION ESCRITA. Alejandro Mc Lean, 1º reimp. 1979. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 135 p. Precio US\$ 3.00.

CONSERVACION DE SUELOS. Fernando Suárez de Castro. 1980. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 335 p. Precio US\$ 6.00.

CULTIVO DE CITRICOS. Charles Morin. 2º ed. 1980. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 610 p. Precio US\$ 14.00.

FACTORES AGRICOLAS EN PLANIFICACION Y DESARROLLO REGIONAL. Isaac Arnon. 1979. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 422 p. Precio US\$ 10.00.

FISICA DE SUELOS. Warren Forsythe. 1º reimp. 1980. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 212 p. Precio US\$ 4.00.

INTRODUCCION A LA FITOPATOLOGIA. Luis Carlos González. 3º reimp. 1979. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 148 p. Precio US\$ 4.00.

LA BATATA O CAMOTE. Fausto Folquer. 1978. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 144 p. Precio US\$ 4.00.

LA INFORMACION COMO MATERIA PRIMA DEL DESARROLLO RURAL. José Emilio G. Araujo. 1978. Publicación Miscelánea 180. Un volumen de 349 p. Precio US\$ 3.00.

LA YUCA O MANDIOCA. Alvaro Montaldo, con la colab. de J. J. Montilla, A. E. Reverón, S. Pérez y T. Gunz. 1979. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 404 p. Precio US\$ 12.00.

MANUAL DE ADMINISTRACION DE EMPRESAS AGROPECUARIAS. Guillermo Guerra. 3º reimp. 1980. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 352 p. Precio US\$ 7.00.

METODOS DE INVESTIGACION FITOPATOLOGICA. Edward French y Teddy T. Hebert. 1980. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 315 p. Precio US\$ 6.50.

MOTORES DE COMBUSTION INTERNA. Jaime Gilardi. 1978. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 133 p. Precio US\$ 3.50.

ORGANIZACION Y ADMINISTRACION DE LA INVESTIGACION AGRICOLA. Isaac Arnon. 2º ed. 1978. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 433 p. Precio US\$ 9.00.

PRODUCCION DE HORTALIZAS. Ernesto Cásseres. 4º ed. 1981. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 409 p.

QUIMICA DE SUELOS. CON ENFASIS EN SUELOS DE AMERICA LATINA. Hans W. Fassbender. 2º reimp. 1980. Serie de Libros y Materiales Educativos. Un volumen de 398 p. Precio US\$ 7.00.

---

CHARACTERIZATION OF THE "BOUQUET"  
STRAIN OF TOMATO BLACK RING VIRUS FROM IMPORTED SEED-POTATO IN BRAZIL<sup>1</sup>/

---

MASSAE KUDAMATSU\*  
M. M. BARRADAS\*  
A. P. C. ALBA\*\*

### Compendio

*Un virus aislado de semilla de papa importada, cv. Sieglinde, fue caracterizado como la cepa Bouquet de la papa, perteneciente al virus del anillo negro del tomate, un nepovirus. El virus fue identificado por medio de plantas hospederas, propiedades físicas, morfología de partículas y ensayos serológicos. La introducción de esta enfermedad en Brasil y su posible subsecuente expansión, es discutida debido a que el país importa semilla de papa y, a que la presencia de nemátodos del género Longidorus, vector natural de algunos nepovirus, ha sido descrita en varias regiones de Brasil.*

### Introduction

In the course of routine tests for indexing foreign seed-potato, Silberschmidt (19) described, in seed potato cv. Sieglinde imported from Poland, a virus that induced on diagnostic plants symptoms similar to those caused by potato bouquet virus. Based on only 4 diagnostic host (*Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Nicotiana tabacum* White Burley and *Petunia hybrida*), Silberschmidt suggested the virus was a member of the tobacco ringspot subgroup, possibly the potato bouquet strain. This virus has been maintained in the collection of Instituto Biológico, and no further investigations has been undertaken.

The present work proposes to complement the study of that virus concerning its characterization. Studies on host range, stability in sap, purifica-

tion, electron microscopy and serological tests were carried out.

### Material and methods

The virus isolate used in this study came from dried leaf tissues of *Nicotiana tabacum* L. cv. White Burley stored at low temperature for 4 years (1) and subsequently maintained in inoculated tobacco or *Chenopodium quinoa* Willd.

For host range investigation, mechanical inoculation was performed by grinding 1 g of infected tobacco leaves in 3 ml of 0.5 percent sodium sulfite (20). The inoculum was applied onto carborundum-dusted leaves of the indicator species. All plants were grown in sterilized soil and maintained in a glasshouse at 16°C.

Tests of stability in sap were made according to Ross (16), with *C. quinoa* as source and test plants.

The virus was purified from leaves of experimentally infected *C. quinoa* plants by chloroform clarification (18) and differential centrifugation followed by centrifugation in sucrose density gradient.

Electron microscopic observations of crude juice preparations were made by the leaf-dip method de-

<sup>1</sup> Received for publication August 20, 1980. The authors are thankful to Miss Marly Ueda, from Instituto Adolfo Lutz, for the help in electron microscopy

\* Assistant, Plant Virus Department, Research-fellows of CNPq.

\*\* Assistant, Phytopathological Biochemistry Department, Research-fellow of CNPq, Instituto Biológico de São Paulo, C.P. 7119, São Paulo, Brasil.

scribed by Brandes (3) with adaptation according to Hitchborn and Hills (8). Leaf strips of infected tobacco or *C. quinoa* were immersed on a drop of 2 percent sodium phosphotungstate (pH 7.2) placed on a Formvar carbon-coated grid. After 1-2 minutes, excess liquid was removed with a filter paper, and the preparation examined in a EM-200 Philips electron microscope. As control, similar preparations from healthy plants were also examined. Purified virus preparations were mixed with an equal volume of the same stain, placed on a Formvar carbon-coated grid, following the same procedure described for the leaf-dip method.

Virus antisera were prepared by single injection of purified preparations intragangliarily (15) with Freund's complete adjuvant in two rabbits. Rabbits were periodically bled and sera were stored frozen. Antisera to myrobalan latent ringspot virus, raspberry ringspot virus, tomato black ring virus-Bu (bouquet strain) and tomato black ring virus-S (type strain) were kindly supplied by Dr. J. Dunez (Station de Pathologie Végétale, Pont-de-la Maye, France) and antisera to raspberry ringspot virus, tomato black ring virus and arabis mosaic virus were kindly supplied by Dr. A. F. Murant (Scottish Horticultural Research Institute, Dundee, Scotland). Virus preparation and antisera were tested in the Ouchterlony agar double-diffusion test. Purified preparations from extracts of healthy *C. quinoa* plants were assayed as control.

### Results

The symptoms induced by the virus on the diagnostic hosts *Nicotiana tabacum* cv. White Burley (Figure 1), *Gomphrena globosa* (Figure 2), *Petunia hybrida* (Figure 3), *Lycopersicon esculentum* (Figure 4), *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, correspond to those induced by strains of the tomato black ring virus, which includes the Bouquet strain (7).

Among other inoculated species and cultivars, 7 showed symptoms, 2 behaved as latent hosts and 24 were apparently immune (Table 1).

In *Chenopodium quinoa* sap, the virus is inactivated after 10 minutes at 65°C but not at 60°C. The dilution endpoint is between 10<sup>-2</sup> and 10<sup>-3</sup>, and the virus retains infectivity for 12 days at room temperature. The virus survives for at least 4 years in leaf tissue stored above CaCl<sub>2</sub> at -18°C.

Electron microscopy of virus preparations showed the presence of isometric particles of c., 30 nm in diameter (Figure 5).

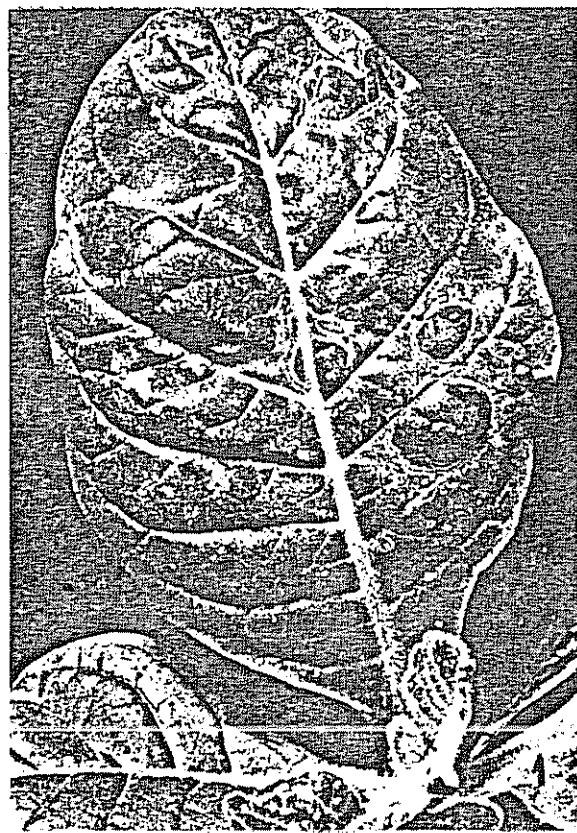


Fig. 1. *Nicotiana tabacum* cv. White Burley: local and systemic symptoms, characterized by necrotic rings and slight leaf deformation.

In double-diffusion tests, virus preparation reacted with the homologous antisera and with antisera to tomato black ring virus, but no reaction was observed with antisera to myrobalan latent virus, raspberry ringspot virus and arabis mosaic virus. In a similar test, no reaction was observed between the antisera and the healthy *C. quinoa* purified preparation.

### Discussion

The results obtained confirmed the assumption by Silberschmidt (19) concerning the presence of the Bouquet strain of tomato black ring virus in the seed-potato cv. Sieglinde. The evidences for this conclusion are based on the following characteristics of the virus: particle morphology, stability in sap, host range and serological tests. These data are in agreement with those previously described for the tomato black ring virus (14). The virus under study reacted against the antisera TBRV-S (type strain) and TBRV-Bu (bouquet strain). No reaction was detected against the myrobalan latent ringspot, a strain of the subgroup TBRV, as well as against the

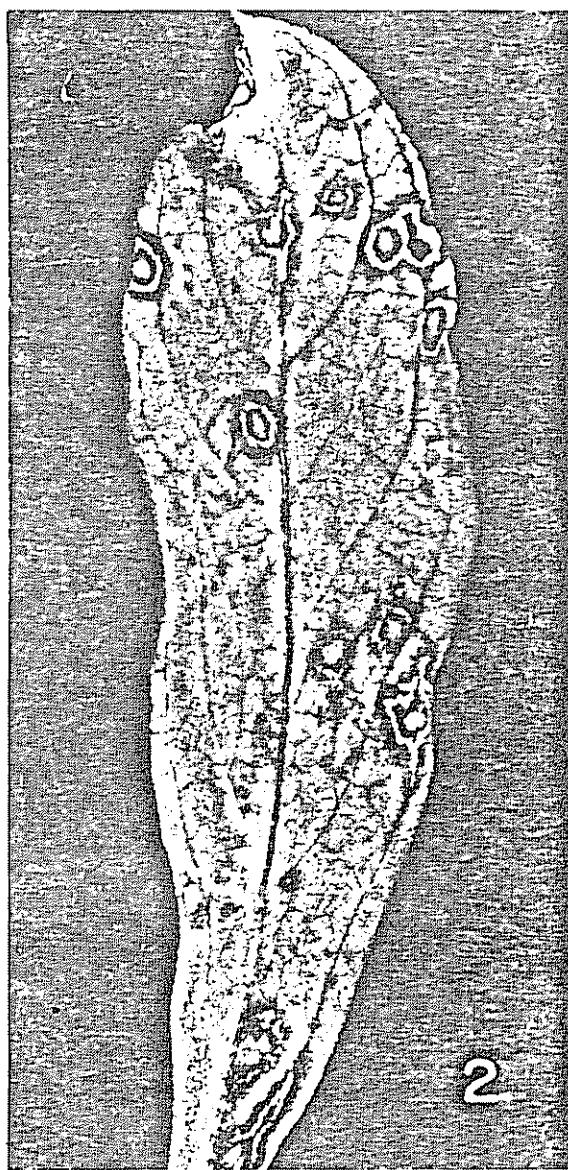


Fig. 2 *Gomphrena globosa* L.: local necrotic rings

arabis mosaic virus and raspberry ringspot virus, also subgroups of the nepoviruses. A previous reported reaction against antiserum to raspberry ringspot virus (11) was not confirmed.

The bouquet disease of potato was first described in Germany under the name "Bukkettkrankheit" (10) and later considered to be caused by one of the strains of TBRV (6, 7) which in Europe may cause important losses on potato crops (2, 17). So far, in Brazil, the Bouquet strain has not been reported in natural conditions, although tobacco ringspot virus — another nepovirus — was described in potato cvs.

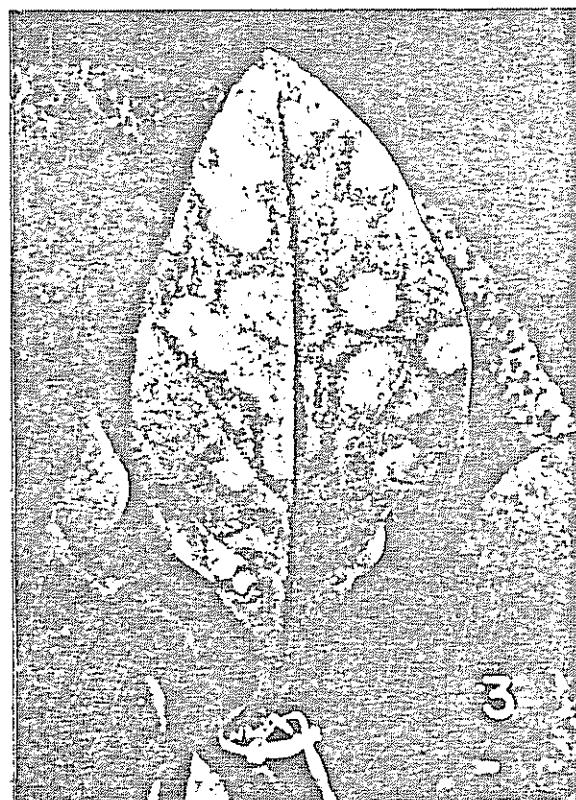


Fig. 3. *Petunia hybrida* chlorotic spots on inoculated leaf

Olimpia and Anett (5). In Kenya, Kaiser *et al.* (9) detected the beet ringspot strain of TBRV in tubers of c.v. Anett imported from West Germany, and pointed out that affected tubers gave rise to stunted plants. This fact indicates the possible adaptation of

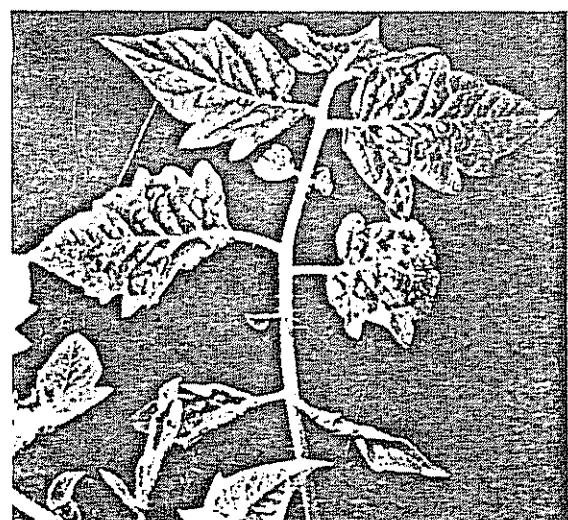


Fig. 4 *Lycopersicon esculentum*: necrotic black rings and distortion of leaflets

**Table 1.** Host range and symptomatology of species and cultivars mechanically inoculated with the virus isolated from potato.

(-) Plants remained symptomless and no virus was recovered from them.

(1) Latent host

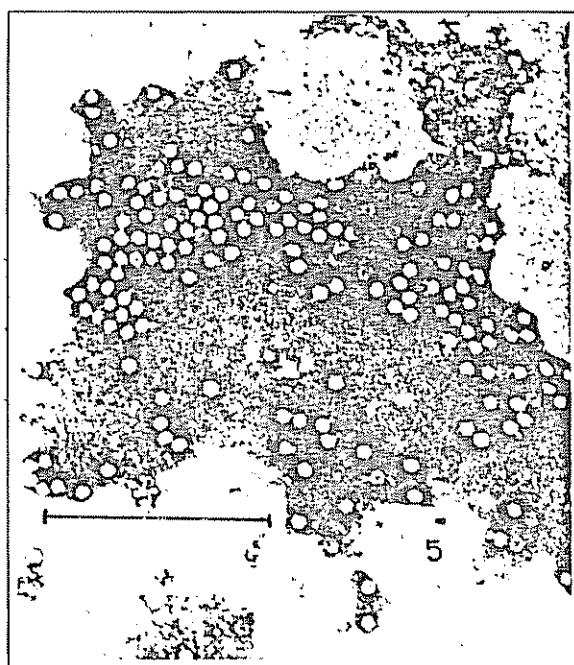


Fig. 5. Particles of the Potato Bouquet strain of tomato black ring virus from a partially purified preparation stained with phosphotungstate. Magnification mark = 500 nm.

nepoviruses from temperate climates to tropical countries.

The consignment of seed-potato cv. Sieglinde infected with the bouquet virus was destroyed (19). However, a possible introduction into Brazil of this virus through imported seed-potato can not be ruled out. If so, in favourable conditions, it could represent a serious problem to our potato crops. This possibility is reinforced by the fact that in several regions of Brazil, nematodes of the genus *Longidorus* — vectors of nepoviruses — have been reported (12, 13, 4).

#### Summary

A virus isolated from imported seed-potato cv. Sieglinde was characterized as the potato bouquet strain of tomato black ring virus, a nepovirus. The virus was identified by means of diagnostic hosts, stability in sap, particle morphology and serological tests. The possibility of the introduction of the disease into Brazil and its subsequent spreading is discussed, since the country imports seed-potato and the presence of nematodes of genus *Longidorus* — natural vector of some nepoviruses — has been reported in several regions of Brazil.

#### Literature cited

- BARRADAS, M. M. Organização de uma coleção de vírus fitopatogênicos em tecidos foliares desidratados com cloreto de cálcio. *Biológico*, 44(9):221-229, 1978.
- BODE, O. Die virosen der Kartoffel und des Tabaks. pp. 1-30, In M. Klinkowski, ed. *Pflanzliche Virologie*. Band II, Berlin, 1958. Akademie — Verlag.
- BRANDES, J. Eine elektronenmikroskopische Schenellmethode zum Nachweis faden- und stabchenförmiger Viren, insbesondere in Kartoffeldunkelkeimen. *Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzd*, 9:151-152, 1957.
- CHOUDHURY, M. M.; MONTEIRO, A. R. e CHOUDHURY, E. N. Ocorrência de fitonematoides em áreas irrigadas do vale do Rio São Francisco. Resumos 3a. Reunião de Nematologia, São Paulo, Brasil, p. 27, 1979.
- CUPERTINO, F. P. e COSTA, A. S. Ocorrência do vírus da mancha anular do fumo em batata. *Bragantia*, 28, nota 2:IX-XII, 1969.
- HARRISON, B. D. Relationship between beet ringspot, potato bouquet and tomato black-ring viruses. *Journal Genetic Microbiology*, 18:450-460, 1958.
- HARRISON, B. D. and MURANT, A. F. Nepovirus group. C. M. I./A. B. Description of plant Viruses No. 185, 1977.
- HITCHBORN, S. H. and HILLS, G. I. The use of negative staining in the electron microscopic examination of plant viruses in crude extracts. *Virology*, 27:528-540, 1965.
- KAISER, W. J.; BOCK, K. R.; GUTHRIE, E. J. and MEREDITH, G. Occurrence of tomato black ring virus in potato cultivar Anett in Kenya. *Plant Disease Reporter*, 62(12): 1088-1092, 1978.
- KÖHLER, E. Die Bukkettkrankheit einer Viruskrankheit der Kartoffel. *Phytopath. Z.*, 19(3):284-294, 1952.
- KUDAMATSU, M.; ALBA, A. P. C.; CHAGAS, C. M. e UEDA, M. Purificação parcial e caracterização serológica de um vírus de batata. *Ciência e Cultura*, 30(7):9, 1978.

12. LEHMAN, P. S.; MACHADO, C. C. e TARRAGO, M. T. Frequência e severidade de doenças da soja nos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. *Fitopatologia Brasileira*, 1(3):183-193, 1976.
13. LEHMAN, P. S.; ANTONIO, H. e BARKER, K. Ocorrência de nematóides em soja nos Estados de Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso. II Reunião de Nematologia, Piracicaba, SP, Brasil, pp. 29-32, 1977.
14. MURANT, A. F. Tomato black ring virus. C. M. I. A. A. B. Descriptions of Plant Viruses No. 38, 1970.
15. OLIVEIRA, A. R. Considerações sobre anti-soros obtidos pela técnica de injeção de antígeno no linfonódulo. *Summa Phytopathologica*, 1:61-64, 1975.
16. ROSS, A. F. Identification of plant viruses. In M. K. Corbet and H. D. Sisler eds. *Plant Virology*, Gainesville. University Florida Press, 1964. pp. 68-92.
17. SALZMANN, R. and KELLER, E. R. Krankheiten und Schädlinge der Kartoffel, Bern. Landw. Lehrmittelzentrale Zollikofen, 150 p., 1969.
18. SCHNEIDER, I. R. Solution of tobacco mosaic virus in the aqueous phase of a chloroform-water emulsion and application of this phenomenon in virus assay. *Science*, 117: 30-31, 1953.
19. SILBERSCHMIDT, K. M. Sobre uma doença de vírus da batatinha veiculada em tubérculos importados. *Biológico*, 31(8):176-177, 1965.
20. YARWOOD, C. E. Sulfite in plant virus inoculations. *Virology*, 39(1):74-78, 1969.

# ACTIVITY OF AUXIN-LIKE SUBSTANCES IN RELATION TO FEMINIZATION OF CASTOR BEAN (*Ricinus communis* L.) INFLUENCED BY KINETIN AND MORPHACTIN<sup>1 \*</sup>

N. RAJÀ KUMAR \*\*  
P. GOPALA RAO \*\*

## Compendio

*La quinetina suprimió la tendencia a la masculinidad en el frijol de castor (*Ricinus communis* L.) mientras que la morfactina no lo afectó. La quinetina indujo a un incremento en la femineidad y una disminución en la masculinidad, causando consecuentemente reducción en el número total de flores en comparación con el número de flores en las plantas testigo.*

*La actividad de las sustancias endógenas parecidas a las auxinas se determinó en las terminales del tallo y las flores. El extracto de methanol fue dividido en fracciones ácida y neutral del etil acetato. Cada fase fue individualmente cromatografiada en papel cromatográfico. La actividad de la auxina fue medida con el bio ensayo de la clorigación del coleóptilo del trigo. La actividad de la auxina fue en su mayor parte vista en Rfs 0.3-0.4, la cual disminuyó conforme la planta avanzaba hacia el estado de reproducción. La actividad inhibitoria fue vista en Rfs 0.8-1.0.*

*Comparadas con el testigo, la quinetina y la morfactina aumentaron la actividad de las sustancias parecidas a la auxina en todos los períodos, más con el anterior que con el tratamiento posterior. Las flores femeninas mostraron una actividad más promotora y menos inhibitoria cuando fueron comparadas con flores masculinas. Ambos tratamientos aumentaron la actividad de substancias parecidas a la auxina en las flores femeninas más que en las masculinas. La quinetina y la morfactina causaron una general disminución en el contenido inhibidor de ambos sexos. El presente estudio, además, indicó que las sustancias parecidas a la auxina están asociadas con la floración de las plantas monoicas tales como el frijol de castor. Aún cuando las morfactinas son consideradas antagónicas a IAA, estimularon la actividad de substancias parecidas a las auxinas con el aumento hacia la tendencia femenina, simulando de este modo a la quinetina.*

## Introduction

The effect of various growth regulators on flower sex expression have been described for a number of plant species. Induction of feminization has been reported by treatments with cyto-

kinins (8), benzyladenine in *Vitis vinifera* (24), zeatin and dihydrozeatin in *Vitis* sp. (14), 6-substituted adenine derivatives in grape (17) and 6-furylaminopurine in *Ricinus communis* (13). Morphactins significantly affect sex expression in some cucurbits such as *Cucumis sativus* (26) and *Cucumis melo* (3). Morphactin has been reported to promote the development of the ovary in some species (27, 23). Morphactin increase femaleness in *Carica papaya* (18) and male tendency in *Luffa acutangula* (6, 20).

1 Received for publication May 22, 1980.

\* Sincere appreciation is extended to Prof. V. S. R. Das for his help and encouragement and to CSIR, New Delhi for the financial assistance.

\*\* Reader in Botany, Sri Venkateswara University, Tirupati-517-502 (A.P.) India.

Several reports have pointed out increase in female sex tendency with auxin treatment (21, 15, 11). Galun *et al.* (12) claimed that the local concentration and balance of auxin and gibberellin was important

for sex differentiation in cucumber buds. Analysis of the auxin (11) and gibberellin (1) content of cucumber lines, that were related genetically but different in their sex expression, showed that auxin content was higher in hermaphrodite plants than in andromonoecious plants, and the levels of gibberellin were higher in monoecious than in gynoecious cucumber plants, indicating that these two hormones participate in the endogenous regulation of sex expression in cucumber. It was felt that the mechanism of sex expression might be independent of the endogenous level of auxins (29). The mode of action of growth regulators in flower sex expression has not been conclusively resolved, and hence, the present investigation has been designed to study the effect of kinetin and morphactin on sex expression in castor bean and changes in the activity of auxin-like substances during feminization.

#### Materials and methods

Seedlings of castor bean (*Ricinus communis* L. var. Aruna) were raised in plots. They flowered eleven weeks after sowing. Aqueous solutions of kinetin (6-furfurylaminopurine) and morphactin EMD 1301 W (methyl ester of chlorofluerenol) were applied in two foliar sprays at a concentration of 20 ppm each, which was found to be more effective in increasing femaleness, till the point of run off. The sprays were made at 6 and 8 weeks after sowing. The shoot tips were collected after the second spray and at one week intervals thereafter. Second stage was the vegetative stage and third being the reproductive stage where the shoot tips possess minute female and male flower buds in the sheath. At the fourth stage female and male flowers formed were removed and their sex expression was determined. Shoot tips at different stages and flower buds at the last stage of control and treated plants were collected and were processed for the extraction of auxin-like substances by the following method.

**Extraction:** Auxins were extracted following the method given by Thurman and Street (30). Twenty-five grams of the freshly harvested material was weighed and rapidly cooled in a deep freeze (-10°C). The samples were then macerated in a mortar with 80% cold methanol at low temperatures (all extractions were carried out in a walk-cooler maintained at 0°C). The sample was immediately returned to the deep freeze and was stored in the dark at this temperature for 24 h. The methanol extract was decanted into another cooled beaker and fresh methanol was added to the sample, and this was repeated thrice

during 24 h storage in dark. The combined methanolic extract was filtered and the methanol removed under low temperature to give an aqueous residue of pH 5.5. The aqueous residue was then adjusted to pH 3.0 with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and shaken four times with twice its volume of ethyl acetate. The total ethyl acetate fraction obtained was separated into neutral and acidic fraction, following the method of Villiers and Wareing (31). The total ethyl acetate fraction was shaken with aliquots of 5% sodium bicarbonate solution. The bicarbonate solution was washed thrice with ethyl acetate and the three ethyl acetate fractions were pooled to give neutral ethyl acetate fraction. The sodium bicarbonate solution was then acidified to pH 3.0 with 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, shaken thrice with aliquots of ethyl acetate and the three fractions combined to give the acidic ethyl acetate fraction.

The neutral and acidic fractions were concentrated to small volume in vacuo, and the concentrated extracts were applied as streaks on Whatman No. 1 chromatography paper and developed in the solvent isopropanol: 0.88 N ammonium hydroxide: water (8:1:1). The developed chromatograms were dried and cut transversely into ten equal strips. Each strip representing one R<sub>f</sub>, was eluted in 2 ml of buffered 2% sucrose solution contained in specimen tubes by the method of Maheswari and Bhalla (21).

**Bioassay:** The biological activity of the eluates collected in the sucrose solution was determined by employing the wheat coleoptile straight growth test of Bonner (5). Seeds of *Triticum aestivum* L. (Samba wheat), were soaked in double distilled water for 4 h and the seeds were sown in 6" Petriplates containing wetted filter papers and were grown in a dark room maintained at 22-23°C. After 66 h of germination coleoptiles of uniform size were selected and were decapitated under dim light discarding 3 mm portions from the tips. The next 4 mm segments were cut and were floated for 2 h on 0.1% solution of manganese sulphate in distilled water and were then used for bioassay. The coleoptile segments were transferred to each of the one inch diameter Petriplates containing 2 ml of test solution prepared earlier with sucrose in buffer at pH 5.4. Two ml of untreated buffer sucrose with 10 coleoptile segments served as control. The Petriplates were covered with wetted filter papers in a tray and they were incubated in darkness for 18 h at 20-22°C. Then the length of the coleoptile segments was measured. Five grams, fresh weight, of the material was employed for bioassay. The histograms show growth promotion (+) inhibition (-) of wheat coleoptile sections expressed as per cent of the sucrose buffer 'control' section.

### Results and discussion

The proportion of pistillate to staminate flowers has been used as an index of sex expression. It was observed that the ratio of pistillate to staminate flowers in control plants was 1:4.75 (Table 1). The increase in femaleness over control was 78% with kinetin and 40% with morphactin treatment. The reduction in male flowers was 40% with kinetin and 3% with morphactin treatment. Kinetin caused reduction in maleness and increase in femaleness to greater degrees and hence the ratio of pistillate to staminate was significantly altered, whereas morphactin caused slight reduction in maleness and increase in femaleness and hence the ratio of pistillate to staminate flowers was not significantly altered. The values for critical difference (C. D.) of both the flowers were calculated at 5%, with differences being significant. The production of female flowers was highly significant between control and treatments. In the case of male flowers there was a significant difference between control and kinetin treated plants, but the results were not significant between control and morphactin treated plants. Morphactin simulates kinetin in increasing the femaleness. Bisaria (4) observed that morphactin increased the production of pistillate as well as staminate flowers in *Luffa acutangula*. Sankhla (27) reported suppression of maleness, whereas Krishnamoorthy (20) observed increase in maleness with morphactin treatment. Thus, there appears to be a difference in response to morphactin in different plants. Except for the significant changes in sex expression, the other morphological changes observed were insignificant.

The relationship between sex expression and the hormonal environment in the shoot tips has not been explored, although there is some evidence to suggest that auxin content was higher in herma-

phrodite plants than in andromonoecious plants (11) and the levels of gibberellins were higher in monoecious than in gynoecious cucumber plants (1). The plant extracts were partitioned into neutral and acidic fractions. The results showed that auxin-like activity changes during the development of the shoot tips to the reproductive condition. Several workers have observed differences in the pattern of growth activity between ether extracts of neutral and acidic fractions. In the shoot apices growth promoting activity was observed at Rfs 0.1-0.7 mostly at Rfs 0.3-0.4. The inhibition occurred at Rfs 0.9-1.0. In the control and treated shoot tips, there was a decrease in activity at Rfs 0.3-0.4 gradually up to the last stage (Figure 1). At all stages the growth promotion at Rfs 0.3-0.4 and 0.5-0.6 was higher in treated shoot tips than in those of the control. The increase in the levels of auxin-like substances induced by kinetin in the shoot tips was higher than that caused by morphactin. A further explanation for the greater activity of auxin-like substances with the treatments might have led to a reduced IAA oxidase activity or been due to the synthesis of more auxins. The growth promotion was more with kinetin treatment than with morphactin. The acidic fraction also showed the same trend as that of the neutral fraction, although it displayed a relatively lower growth promoting activity than neutral fraction. The results indicate a decrease in the activity of auxin-like substances from vegetative to reproductive growth.

In the present study female flowers showed more activity at growth promoting zones than male ones, both in neutral and acidic fractions. Female flowers showed higher activity at Rfs 0.3-0.4 than male flowers (Figure 2). These results can be corroborated by the observations made by Galun *et al.* (11) that endogenous auxin is a regulator of sex expression through which the control of genes concerned is mediated. A very large difference in auxin content

Table 1. Effect of kinetin and morphactin on changes in sex expression. (Mean of ten replications).

	Control	Kinetin	Morphactin
Female flowers	32	57	45
Male flowers	152	92	148
Ratio of female: male	1:4.75	1:1.61	1:3.29
	Female flowers	Male flowers	
F. calculated	23.11*	31.14*	
C. D. at 5% level	7.53	17.56	

\* Significant at P = 0.05

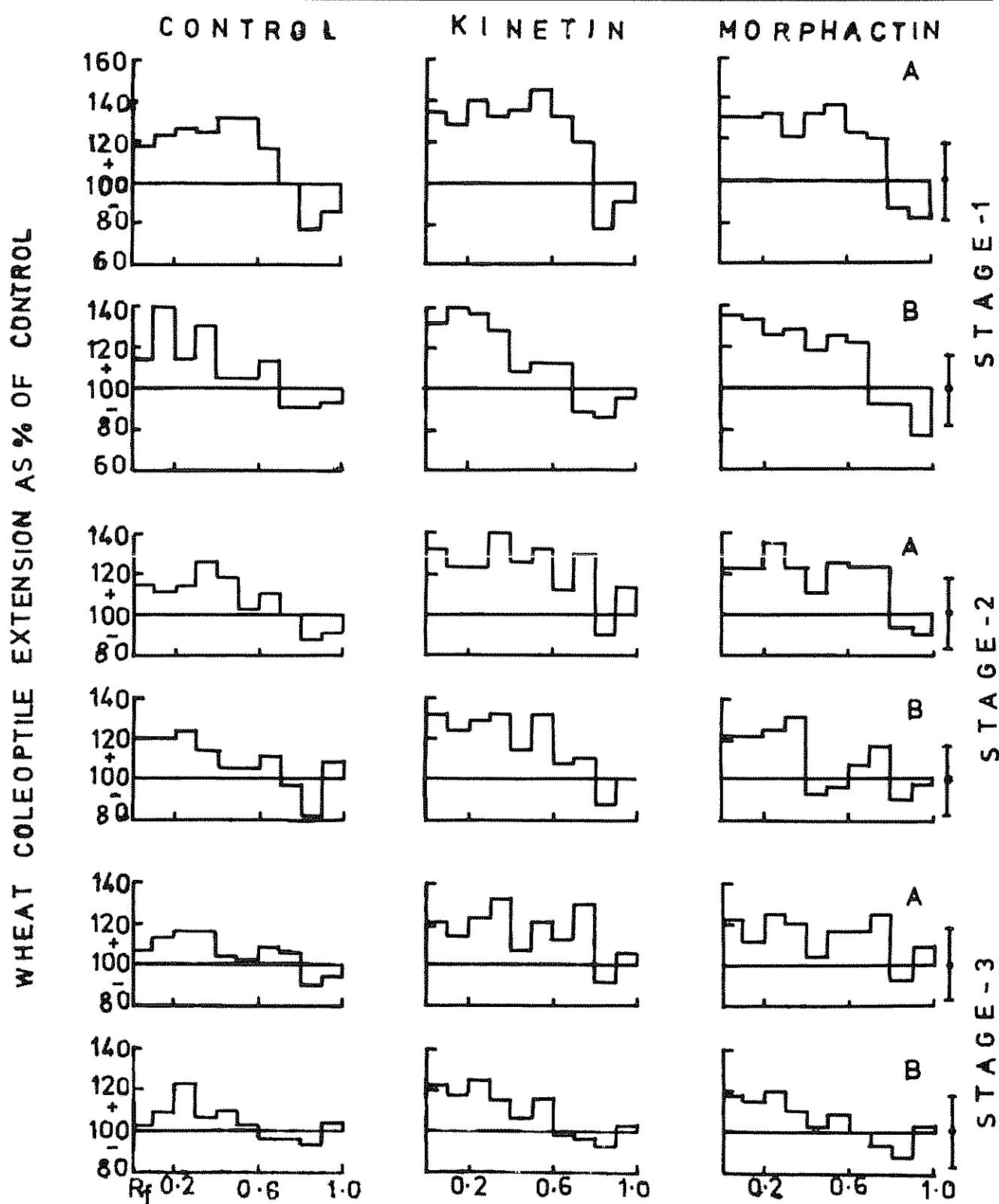


Fig. 1. Activity of treated and control shoot tips in wheat

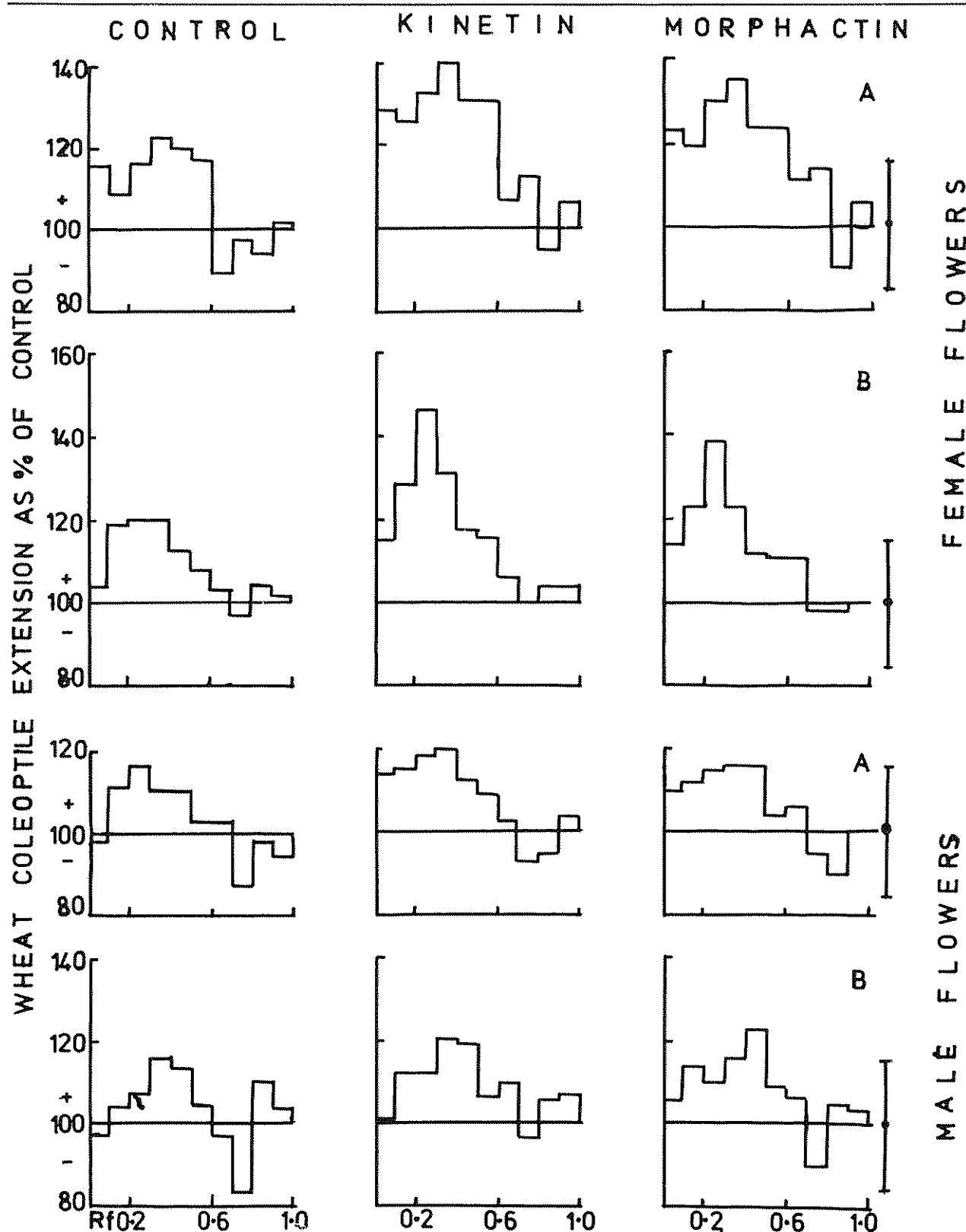


Fig. 2. Comparison between female and male flowers activities

between male and female of *Cannabis* plants was observed by Conrad and Mothes (10). Female plants contained 30 times more auxin than male plants. An increase in the number of female flowers induced by exogenous application of auxin (21) indicates an association of auxin with femaleness. Kinetin and morphactin treatments showed a decrease in the inhibitor zones in both male and female flowers. Kinetin could increase the auxin-like substances content during vegetative phase, in particular. According to Chailakhyan (9), the role of kinins in vegetative growth is highly significant, though it is much less clear for processes of transition of plants to a flowering state. According to Schneider (28), morphactins inhibit the transport of IAA, although the possibility of a stimulation of enzymatic breakdown was also considered. Surprisingly enough, results of the present study indicate that morphactin stimulates auxin activity quite similar to kinetin.

In the present study, the growth inhibitory zones were observed at Rfs 0.9-1.0. This may be different in different plants. In the acidic ether extracts of etiolated broad bean and pea shoots and roots, potato shoots and tubers and immature maize kernels, Bennet-Clark and Kefford (2) and Kefford (19) observed an inhibitory zone at Rf 0.6, which extended up to Rf 1.0, thus exhibiting a broad zone of inhibitors. Also, in the present study, the growth promotory zones were observed at Rfs 0.1-0.7, mostly at 0.3-0.4. This is not uncommon and in most of the plants it ranges from 0.1-0.2. In the ether extract of tomato and cabbage the growth promotion zone was observed at Rf 0.1-0.2 (7, 16). Thurman and Street (30) observed promotory activity at Rf 0.2 in tomato root when chromatographed with ammoniacal isopropanol. According to Phillips (25) a rough estimate of the total auxin in the different tissues can be obtained by adding the curvatures from the eluates at the appropriate Rfs and by converting the total curvature into IAA equivalents.

The present results show that these growth regulators may act in the control of auxin-related phenomenon: increase in auxin biosynthesis or inhibit IAA-oxidase activity. The similarity between the effects of kinetin and morphactin on sex expression of castor bean suggests that these two growth regulators increase the femaleness, and that the degree of increase corresponds to the degree of auxin-like substances. A striking point to be noted is that although morphactin is antagonistic to IAA, the present study indicates that it stimulates auxin activity.

#### Summary

Kinetin suppressed male tendency in castor bean (*Ricinus communis* L.) while morphactin did

not affect it. Kinetin elicited an increase in femaleness and decrease in maleness, consequently causing reduction in the total number of flowers, compared to the number of flowers in the control plants. The activity of the endogenous auxin-like substances was determined in shoot tips and flowers. Methanol extracts were partitioned as acidic and neutral ethyl acetate fractions. Each phase was individually chromatographed on Whatman No. 1 chromatography paper. The auxin activity was measured with the wheat coleoptile elongation bioassay. Auxin activity was mostly seen at Rfs 0.3-0.4, which decreased as the plant proceeds towards the reproductive stage. Inhibitory activity was seen at Rfs 0.8-1.0. Compared to control, kinetin and morphactin increased the auxin-like activity at all stages, more with the former than with the latter treatment. Female flowers showed more promotory and less inhibitory activity when compared to male flowers. Both the treatments increased auxin-like activity in female flowers than in male ones. Kinetin and morphactin caused a general decrease in the inhibitor content of both sexes. The present study also indicated that auxin-like substances are associated with flowering in monoecious plants such as castor bean. Although morphactins are considered to be antagonistic to IAA, they stimulated auxin-like activity in relation to increased female tendency, thus simulating kinetin.

#### Literature Cited

- ATSMON, D., et al. Contents and recovery of gibberellins in monoecious and gynoecious cucumber plants. *Plant Physiology*. 43:806-810. 1968.
- BENNET-CLARK, T. A. and KEFFORD, N. P. Chromatography of the growth substances in plant extract. *Nature* 171:645. 1953.
- BISARIA, A. K. Physiology of sex expression in plants. Ph.D. Thesis, Meerut University, India. 1974.
- BISARIA, A. K. Effect of a morphactin on growth, sex expression, fruit set and yield in *Luffa acutangula*. *Canadian Journal Botany*. 55:752-756. 1977.
- BONNER, J. Relations of respiration and growth in *avena* coleoptile. *American Journal Botany*. 36:429-436. 1949.
- BOSE, F. K. and NITSCH, J. P. Chemical alteration of sex expression in *Luffa acutangula*. *Physiology Plant.* 23:1 206-1 211. 1970.

7. BRITTON, G. S. *et al.* Studies in plant growth hormones V. Chromatography of hormones in excised and intact roots of tomato seedlings. *Journal Experimental Botany*. 7:239-251. 1956.
8. CATARINO, F. M. Some aspects of kinetin on sex expression in *Broyophyllum crenatum*. *Portugal Acta Biology Serie A*:267-284. 1964.
9. CHAILAKHYAN, M. Kh. Internal factors of plant flowering. *Annual Review Plant Physiology*. 19:1-36. 1968.
10. CONRAD, K. and MOTHES, K. Über geschlechtsgebunden Unterschiede im Auxin-gehalt dioeischer Hanfpflanzen. *Naturwissenschaften*. 48:26-27. 1961.
11. GALUN, E. *et al.* Determination of relative auxin content in hermaphrodite and andromonoecious *Cucumis sativa*. *Plant Physiology*. 40:321-326. 1965.
12. GALUN, E. *et al.* Morphogenesis of flower buds of cucumber cultured *in vitro*. *Development Biology*. 6:370-387. 1963.
13. GOPALA RAO, P. and RAJA KUMAR, N. Modification of sex expression by kinetin, morphactin and urea in castor. *Curr. Science*. 45:838. 1976.
14. HASHIZUME, T. and IIZUKA, M. Induction of female organs in male flowers of *Vitis* species by zeatin and dihydrozeatin. *Phytochem*. 10:2 653-2 655. 1971.
15. HESLOP-HARRISON, J. The experimental modification of sex expression in flowering plants. *Biology Review*. 32:38-90. 1957.
16. HOUSLEY, S. and BENTLEY, J. A. Studies in plant growth hormones. IV. Chromatography of hormones and hormone precursors in cabbage. *Journal Experimental Botany*. 7:219-238. 1956.
17. IIZUKA, M. and HASHIZUME, T. Induction of female organs in staminate grape by 6-
- substituted adenine derivatives. *Japan Journal Genetics* 43:393. 1968.
18. JINDAL, K. K. and SINGH, R. N. Modification of flowering pattern and sex expression in *Carica papaya* by morphactin, ethephon and TIBA. *Z. Pflanzenphysiology*. 78:403-410. 1976.
19. KEFFORD, N. P. The growth substances separated from plant extracts by chromatography. *Journal Experimental Botany*. 6:129-151. 1955.
20. KRISHNAMOORTHY, H. N. Effect of morphactin on growth and sex expression of *Luffa acutangula*. *Z. Pflanzenphysiology*. 65:88-90. 1971.
21. LAIBACH, F. and KRIBBEN, F. J. Die Bedeutung des Wuchsstoffes für die Bildung und Geschlechtsbestimmung der Blüten. *Beitr. Biology Pflanz.* 28:131-144. 1950.
22. MAHESWARI, S. C. and BHALLA, P. R. Two new oat varieties for auxin bioassay. *Indian Journal Plant Physiology*. 2:116-126. 1964.
23. MOHAN RAM, H. Y. and JAISWAL, V. S. Feminization of male flowers of *Cannabis sativa* by a morphactin. *Naturwissenschaften*, 58:149-150. 1971.
24. NEGI, S. S. and OLMO, H. Sex conversion in a male *Vitis vinifera* by a kinin. *Science* 152:1 624-1 625. 1966.
25. PHILLIPS, I. D. J. Root-shoot hormone relations. II. changes in endogenous auxin concentration produced by flooding of the root system in *Helianthus annus*. *Annual Botany*. 28:37-46. 1964.
26. ROBINSON, R. W. *et al.* Morphactin induced parthenocarpy in cucumber. *Science* 171: 1 251-1 252. 1971.
27. SANKHLA, N. Effect of morphactin on flower sex expression in *Nicotiana paniculata*. *Z. Pflanzenphysiology*. 61:350-352. 1969.

28. SCHNEIDER, G. Morphactins: Physiology and performance. Annual Review Plant Physiology. 21:499-536. 1970
29. SCHIFFRIS, O. and GALUN, E. Sex expression in the cucumber. Proceedings American Society Horticultural Science. 67:479-486. 1957.
30. THURMAN, D. A. and STREET, H. E. The auxin activity extractable from excised tomato roots by cold 80 per cent methanol. Journal Experimental Botany. 11:188-197. 1960.
31. VILLIERS, T. A. and WAREING, P. F. The growth substance content of dormant fruits of *Fraxinus excelsior*. Journal Experimental Botany. 16:553-544. 1965.

# COMPARISON OF SOME MULCHES FOR USE IN BRAZILIAN EUCALYPT NURSERIES<sup>1</sup> /

R. D. AYLING\*  
P. J. BIRZINS\*\*

## Resumo

Cinco coberturas-mortas (cascas de arroz, acículas de pinho, palha, serragem de eucalipto e pó de carvão vegetal) foram comparadas quanto à sua influência sobre a conservação da umidade do solo, a germinação e a sobrevivência de *Eucalyptus saligna* Sm.

Sob condições áridas, palha, cascas de arroz e acículas de pinho demonstraram as mais baixas taxas de evaporação da umidade do solo assim como as mais altas taxas de sobrevivência de mudas. Porém, sob condições não áridas, as coberturas-mortas de serragem e palha exibiram significativamente mais altas sobrevivências, apesar da alta potencialidade de evaporação da umidade do solo com a cobertura de serragem. O maior taxa de evaporação ocorreu com pó de carvão vegetal, espessura de 1 cm. Esta cobertura produziu um número baixo de plantas, mostrando, porém, a maior biomassa por planta, o que foi atribuído, provavelmente, ao nível alto de cations básicos e, também, ao alto pH (9.5) da cobertura-morta.

Para um controle efetivo da erosão, coberturas-mortas de fibras compridas, características da cobertura de acículas de pinho, foram designadas como essenciais.

## Introduction

This paper reports on experiments which seem to be essential for comparative evaluations of fibre mulches. A desirable cellulose mulch should have a low water-holding capacity and good drainage properties. Such a mulch will create an effective barrier to soil-water diffusion to the atmosphere and thereby retain a greater soil-moisture supply for plant growth (1). With thick mulch covers, water-holding

capacities and drainage properties are important considerations. In this study however, mulch layers only 1 cm thick were examined, and those characteristics are not critical and therefore not reported.

This study was part of a Canadian/Brazilian research and development program designed to evaluate cellulose fibre mulches by examining their chemical composition and their influence on soil-moisture conservation and the vegetative growth of *Eucalyptus saligna* Sm. This research program was carried out at the Federal University of Viçosa, Viçosa, Brazil from early September to late November, 1979. Meteorological conditions during the study period are shown in Table 1. Viçosa lies at an elevation of 670 m at 20° 45' S latitude and 42° 7' W longitude in southeastern Brazil. The region is within the Brazilian Highlands and the topography is generally hilly with narrow river valleys.

A mulch may best be defined as a protective covering, either spread or left upon the ground, for the purpose of increasing soil productivity primarily through microclimatic modification (3). In

1 Received for publication 18 February, 1980. The authors would like to thank Universidade Federal de Viçosa Professors Jose Mauro Gomes, for providing the mulches and equipment, and Roberto Ferreira de Novais, for assisting with the chemical analysis of the mulches.

\* Formerly Visiting Prof of Forest Management, Universidade Federal de Viçosa, Brazil, currently at Faculty of Forestry, University of Toronto, Canada.

\*\* Formerly graduate student, Faculty of Forestry, University of Toronto, currently with the British Columbia Forest Service, B. C., Canada.

addition to conserving soil water (5, 12), and moderating soil-surface temperatures (16), the practice of mulching often increases plant growth by suppressing weeds (9), by decreasing wind and water erosion (7, 20), and by providing nutrients (10). Cellulose fibre mulches also supply the soil with a new carbohydrate source which often increases soil microbial populations and subsequently causes nitrogen depletion (19). Fertilizing may overcome this problem and is frequently part of a mulching program. Difficulties exist however, in selecting the most efficient mulch for a particular site and species, and this study evaluates some mulches which are commonly used in Brazil. Dry grass and rice husk mulches, for example, have been reported to have improved the height performance of *Eucalyptus citriodora* Hook seedlings, in São Paulo nurseries, compared to a sawdust mulch or a fine soil cover, and germination was better under the dry grass than under any other mulch (6). The height growth of *Pinus taeda* L. nursery stock has also been improved by mulching. Oliveira and Bridi (15) observed better growth using a pine needle cover than with rice husk or leaf mould mulches.

#### Materials and methods

Six treatments consisting of a bare soil control and 5 cellulose fibre mulches – rice husks, pine needles, charcoal dust, straw, and eucalypt sawdust – were evaluated.

#### Experiment 1. Chemical analysis of the mulches

Three replicates of each mulch were analysed for Ca, Mg, K, P, and N using standard soil analysis techniques as outlined in 'Methods of Soil Analysis' – Parts 1 and 2 (2). Ca and Mg were determined by atomic absorption in a 1N KCl solution. P and K were extracted using the North Carolina extracting solution (0.05N HCl and 0.025N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), and N was determined by the Kjeldahl method. For pH determination, it was necessary to grind the rice husks, pine needles, and straw mulches to ensure proper particle distribution. A mulch:water ratio of 1:5 provided a suitable slurry for measurement.

#### Experiment 2. Effect of mulch cover on soil-water evaporation and early germination of *E. saligna*.

To investigate the influence of a mulch cover on soil-water conservation, the mulches were applied to potted bare soil; the soil and mulch were then saturated with water and weighed every 48 hours.

The randomized block experiment consisting of all 6 treatments was replicated 3 times in a 30-35°C greenhouse. Each of the 18 experimental units consisted of a 17.5 g plastic container (evaporation from the sides and bottom was therefore zero) with a surface area of 95 cm<sup>2</sup>, 30 seeds of *E. saligna*, and a 1 cm mulch layer over 678.5 g of air-dried soil.

In order to decrease soil variability, the soil (31 percent clay, 3 percent silt, and 66 percent sand) was passed through a 2 mm mesh sieve and packed to an 8 cm depth in each container. Soil-water saturation was determined by allowing 100 cm<sup>3</sup> of water to saturate 100 g of soil, and after drainage ceased, the remaining water constituted the soil-water saturation per 100 g of soil. Initially, 200 cm<sup>3</sup> of water were added per pot to saturate the soil, with an additional 50 cm<sup>3</sup> added at the third 48-hour watering period, and 100 cm<sup>3</sup> at the fourth watering period to ensure adequate moisture for seed germination. When evaporation became negligible, the experiment was ended.

#### Experiment 3. Effect of mulch cover on biomass accumulation and survival of *E. saligna*

Three hundred seeds of *E. saligna* were sown in plots of sieved soil (the same composition as in Experiment 2) in an outdoor nursery. The plots measured 957 cm<sup>2</sup> and were covered with a 1 cm layer of mulching material, watered, and screened to keep out birds. The randomized experiment consisting of 6 treatments was replicated 3 times. After 50 days, the seedlings were harvested, counted, and their dry weights determined.

#### Results and Discussion

##### Experimental 1. Chemical analysis of the mulches

As shown in Table 2, the charcoal dust mulch exhibited a relatively high cation content as well as a high pH. The soils used in many Brazilian eucalypt nurseries, particularly those of the dry central region of Brazil, are acidic (pH 5.0 or less) and are low in Ca, Mg, K, and P (14) and the application of a charcoal dust mulch would possibly increase the pH at the soil surface aside from having a certain fertility value by itself.

Table 2 also indicates that all the mulches have a low nitrogen content. Allison (1) points out that if a mulch has a carbon:nitrogen ratio greater than 25:30 (a nitrogen content less than 1.2-1.5%), the decomposition rate of the mulch by soil microorganisms will likely decrease. As much of the N

is used by the soil organisms, little will be left available for plant growth. The mulches used in this study might require N fortification to enhance the amount available to a seedling crop.

#### Experiment 2. Effect of mulch cover on soil-water evaporation and early germination of *E. saligna*

The charcoal dust mulch had the highest moisture evaporation rate over the 12, 48-hour periods, and was grouped with the controls and the sawdust mulch which also had a high evaporation potential (Figure 1). The low albedo of a black mulch cover such as charcoal results in greater radiation absorption and thus surface temperatures increase. Saturation vapour pressures increase over the environment vapour pressures (13) and hence water evaporation rates are higher.

In accordance with Kijne (10), the data for cumulative evaporation was divided into two stages, a constant-rate period, and a falling-rate period. During the first stage, the evaporation rate is determined by external factors of the environment and by the mulch:soil-surface conditions, when the soil is saturated with water. The conductive properties of the mulch and of the underlying soil become important variables during the second stage, the falling-rate period (8). Particle size distribution, for example,

influences water loss when the soil-moisture becomes limiting.

The transformation necessary to describe the distinct stages of the evaporation functions is given in Table 3. The linear functions were divided into 2 mulch evaporation groups according to the slope homogeneity test (18). It was also observed that an inverse relationship existed between rates of evaporation and the survival of *E. saligna* seedlings (Table 3).

Table 3 also indicates that the straw, rice husk, and pine needle mulches significantly decreased soil-water evaporation, compared with the bare soil control. This suggests that an inefficient water transport mechanism might have been created by these mulches since they were not in immediate surface contact over the entire soil surface but were frequently separated by air pockets. In contrast, the sawdust and charcoal dust mulches have a high surface-air to volume ratio, resulting in more direct ground surface contact which increases the possibility of heat transfer, leading to greater upward water flow and greater evaporation. In addition, capillary flow through these mulches might also be possible to some extent, which would help increase the rate of evaporation. This process has been referred to as the 'wick effect' (3).

#### Experiment 3. Effect of mulch cover on biomass accumulation and survival of *E. saligna*

Variance-ratio testing of the 0.05 percent probability level of the total *E. saligna* biomass per mulched plot revealed no significant differences although the charcoal and sawdust mulches resulted in the highest biomass values (Table 4). Seedling survival per plot was significantly affected at the 0.05 percent level and have been separated in Table 4 into groups using Duncan's Multiple Range Test.

Charcoal dust and the controls are in both groups and this would suggest a minimum biological role of mulching under the conditions of this experiment.

Table 1. Meteorological data for Viçosa, Brazil (Instituto Nacional de Meteorologia, 1979).

	Sept.	Oct.	Nov.
Average Temp (°C)	17.8	21.0	21.2
Total Monthly Precipitation (mm)	34.1	34.8	360.5
Total Monthly Evaporation (mm)	90.9	137.5	128.0
Total Monthly Insolation (h)	134.1	164.6	181.5

Table 2. Summary of chemical analysis of the mulches.

Mulch	Ca%	Mg%	K%	N%	P%	pH
Charcoal dust	2.60	1.50	0.58	0.49	0.02	9.5
Pine needles	0.84	1.00	0.26	0.74	0.01	5.3
Rice husks	0.10	0.26	0.32	0.35	0.01	6.4
Eucalypt sawdust	0.42	0.70	0.12	0.09	0.01	6.1
Straw	0.26	0.61	0.40	0.92	0.02	6.5

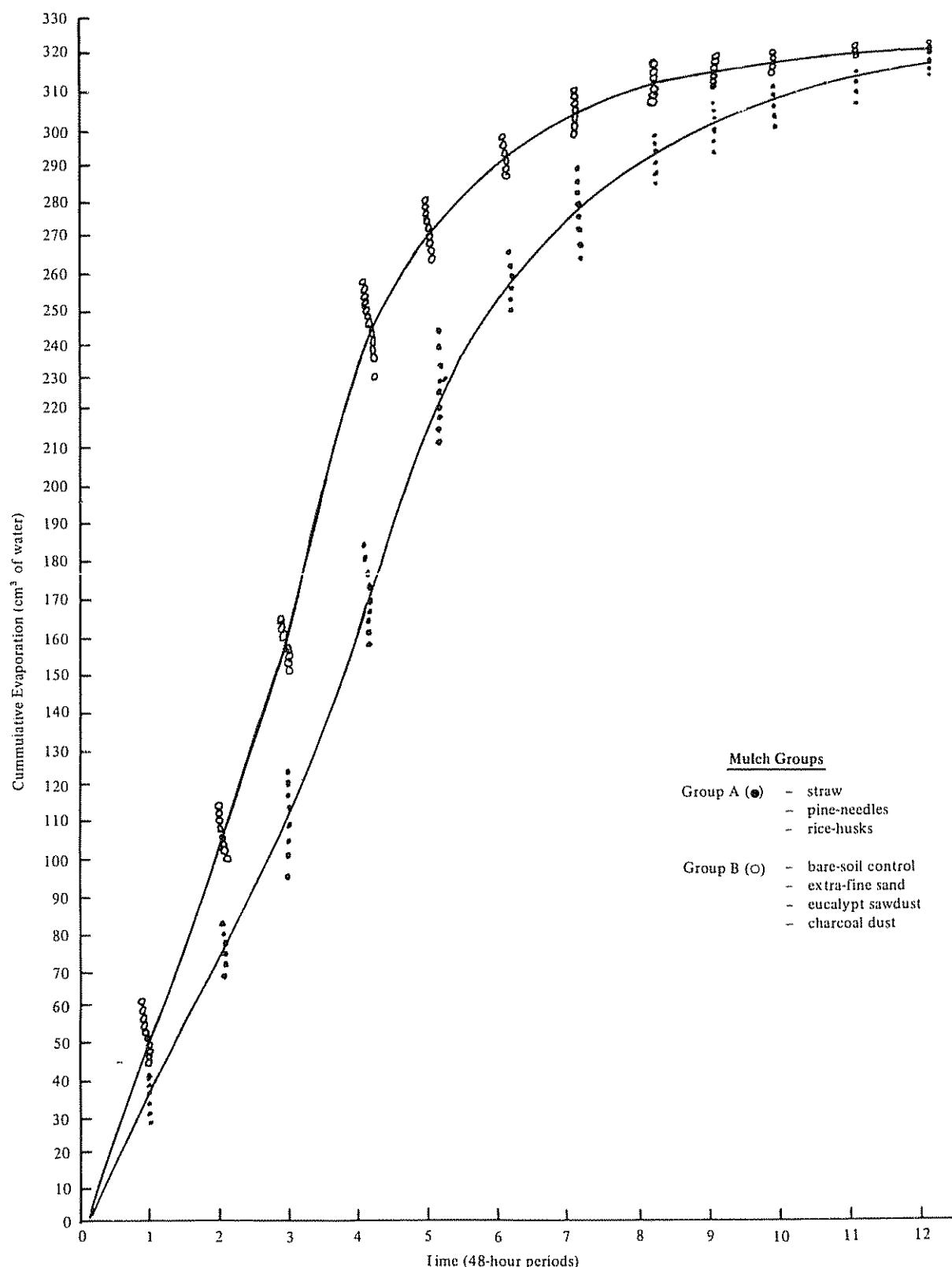


Fig. 1. Cummulative evaporation of water under various mulch covers. (The two mulch groups were determined by slope homogeneity tests on the linear transformations of the functions).

Table 3. Comparison of soil-moisture evaporation functions and *Eucalyptus saligna* survival under various mulch covers.

Mulch	Evap. Functions	Y Mean	Std. Err.	Groupings*	No. Survival (12 days)	Groupings**
Straw	Y <sub>1</sub>	2 499	34	A	11	B
Rice husks	Y <sub>2</sub>	2 559	119	A	16	A
Pine needles	Y <sub>3</sub>	2 602	105	A	11	B
Sawdust	Y <sub>4</sub>	2 656	22	B	2	C
Charcoal dust	Y <sub>5</sub>	2 671	20	B	2	C
Bare soil (control)	Y <sub>6</sub>	2 642	13	B	0	C

\* Similar group letters indicate no significant differences at the 0.05% level using the slope homogeneity test (18).

\*\* Similar group letters indicate no significant differences at the 0.05% level using Duncan's Multiple Range Test

$$Y_1 = -141.724T + 711.871T^2 - 1.317.977T^3 + 11.480$$

$$Y_2 = -142.982T + 714.139T^2 - 1.313.019T^3 + 11.647$$

$$Y_3 = -150.984T + 781.238T^2 - 1.482.452T^3 + 11.974$$

$$Y_4 = -144.046T + 732.897T^2 - 1.344.719T^3 + 11.632$$

$$Y_5 = -144.389T + 738.999T^2 - 1.363.965T^3 + 11.631$$

$$Y_6 = -144.663T + 740.300T^2 - 1.367.777T^3 + 11.637$$

Equations developed at the 0.01% level using the function  $y = t(\alpha t - \beta)$ , where  $y$  = cumulative evaporation ( $\text{cm}^3$ ),  $t$  = time (48-h/periods),  $\alpha$  and  $\beta$  = coefficients transformed by  $Y = 1/y$  and  $T = 1/t$  to achieve the linear form  $Y = \alpha + \beta T$  (4).

Equations developed for  $4 < t \leq 12$

The 1 cm mulch layers were possibly too thin to have a noticeable biological effect, as thicker mulch covers have been reported to increase crop yields (13, 17). The largest and healthiest-appearing seedlings were, however, obtained with the charcoal dust and this might be attributed to its chemical characteristics.

Table 4. Biomass accumulation and mean survival per mulched plot for *Eucalyptus saligna*

Mulch	Total oven-dry weight (g)	Mean survival per plot	Group- ing*
Sawdust	2.82	61	A
Straw	2.13	60	A
Bare soil (control)	1.36	30	AB
Charcoal dust	3.65	18	AB
Pine needles	0.99	9	B
Rice husks	0.38	8	B

\* Similar letters indicate no significant differences at the 0.05% level using Duncan's Multiple Range Test.

The sawdust mulch had a high evaporation rate and also gave the highest survival per plot, while those mulches with low rates of evaporation (pine needles and rice husks) resulted in poor seedling survival. This relationship is in direct contrast to the results of the indoor water evaporation experiment where the mulches with high evaporation rates resulted in poor survival. It is possible that under the relatively more arid conditions of the greenhouse, the greater evaporation rates exhibited by the short-fibred mulches (charcoal dust and sawdust), combined with greater heat absorption, proved to be more detrimental to newly germinated seedlings compared with the lower rates of evaporation shown by the long-fibred mulches (straw, rice husks, and pine needles). Watering was carried out by the nursery staff every day throughout experiment 3, whereas the watering for the indoor experiment was done every 48 hours.

#### Conclusions

In situations where watering might be irregular or intermittent, long-fibred mulches such as pine needles, straw, and rice husks might prove to be

more beneficial than short-fibred ones which have greater soil-surface contact and hence higher evaporation rates. Long-fibred mulches increase the length of the diffusion path from the soil surface to the atmosphere, thereby minimizing capillary flow and thus water movement out of the soil.

Long-fibred mulches also tend to lodge crosswise in rills, reducing soil and seed displacement (20) and this feature, combined with their low water evaporation potentials, would likely be of more value for slope stabilization than short-fibred mulches. Kill and Foot (11) for example, when comparing various cellulose pulp mulches, found that long-fibred ones were more effective in reducing soil loss than short-fibred ones.

Pine needle, rice husk, and straw mulches also have low water-holding capacities and although short-fibred mulches such as sawdust retain more moisture, the soil under them might actually be dry. This could prove detrimental in instances where a short-fibred mulch slurry was added as a protective cover to a dry surface. Hence, it would seem that long-fibred mulches are more desirable for soil-moisture conservation, particularly where watering (rainfall) is infrequent.

Nevertheless, there may be opportunities to employ a mulch such as charcoal dust where the soil surface pH properties might be improved, especially with the often highly acidic soils used in Brazilian nurseries. In these situations, watering would be controlled and the high evaporation rate of a short-fibred mulch would not likely be detrimental to plant germination and growth.

### Summary

Five cellulose mulches were evaluated on the basis of their chemical constituents, pH, and water evaporation potentials. Mulch covers 1 cm thick were examined and water-holding capacities and drainage characteristics were not considered.

Under greenhouse conditions where watering occurred once every 48 hours, the highest water evaporation rates were found with the short-fibred charcoal dust and eucalypt sawdust mulches. Survival of *Eucalyptus saligna* seedlings was also poorest with these mulches. In contrast, seedling survival and biomass accumulation were poorest in the nursery with the long-fibred pine needle and rice husk mulches which had low soil-moisture evaporation rates.

As a possible explanation for these contrasting results, it is suggested that under intermittent watering situations such as occurred in the greenhouse, short-fibred mulches with more direct soil surface contact proved detrimental to germinating seedlings because of their higher evaporation rates and greater heat absorption. When watering is more uniform, such as in a nursery, these mulches may be of value, especially if their chemical contents and pH ameliorate the soil surface. Long-fibred mulches, however, would appear to be of more benefit for soil stabilization in situations where watering is not controlled due to their low water-evaporation rates, high water-holding capacities, and their tendency to lodge crosswise in rills.

### Literature cited

- ALLISON, F. E. Soil organic matter and its role in crop production. Elsevier Scientific Publications Co. New York. 1973. 637 p.
- AMERICAN SOCIETY OF AGRONOMY. Methods of soil analysis. Part 1: Physical and mineralogical properties, including statistics of measurement and sampling. Part 2: Chemical and microbiological properties. Black, C. A. (Editor), Madison, Wisconsin. 1965. 1 572 p.
- BIRZINS, P. J. and AYLING, R. D. The development of cellulose fibre mulches: a North American perspective. Revista Arvore 5(1), (In Print), Viçosa, Brasil. 1981.
- CHATIERJEE, S. and PRICE, B. Regression analysis by example. John Wiley & Sons, New York. 1977. 228 p.
- DAY, A. D., TUCKER, T. C. and THAMES, J. L. Russian thistle for soil mulch in coal mine reclamation. Reclamation Review 2: 39-42. 1979.
- FERREICA, J. C. M. and AGUIAR, I. B. Effect of mulching in the production of seedlings of *Eucalyptus citriodora* in different containers. Cientifica 3(1):157-167. 1975.
- GILL, K. S. Effect of wind on water loss from tubed seedlings of jack pine and white spruce. University of Toronto, Toronto, Canada. 1970. (M. Sc. F. thesis) 115 p.
- HILLEL, D. Soil and water. Academic Press, New York. 1971. 228 p.

9. HUNT, L. O. Evaluation of various mulching materials used to improve plantation survival. *Tree Planters' Notes* 57:19-22. 1963.
10. KIJNE, J. W. Evaporation from soils. In: *Physical aspects of soil-water and salts in ecosystems*. Hades, A. D., Swartzendruber, D., Rijtema, P. E., Fuchs, M. and Yaron, B. (Editors), Springer-Verlag Publ. Co., New York. 1973. pp. 221-226.
11. KILL, D. L. and FOOT, L. E. Comparisons of long-and short-fibered mulches. *Trans ASAE* 14:942-944. 1971.
12. KOSHI, P. T. and FRYREAR, D. W. Effect of seedbed configuration and cotton bur mulch on lint cotton yield, soil-water, and water use. *Agronomy Journal* 63:817-822. 1971.
13. LEE, R. *Forest microclimatology*. Columbia University, New York. 1978. 276 p.
14. LOPES, A. S. and COX, F. R. A survey of the fertility status of surface soils under cerrado vegetation in Brazil. *Soil Science Society of America Proceedings* 41:742-747. 1977.
15. OLIVEIRA, J. J. P. DE and BRIDI, G. L. Influence of needles, rice straw, and vegetable mould on the germination and development of *Pinus taeda* L. seedlings. *Revista do Centro de Ciencias Rurais* 6(2):197-201. 1976.
16. PAPENDICK, R. I., LINDSTROM, M. J. and COCHRAN, V. L. Soil mulch effects on seedbed temperature and water during fallow in eastern Washington. *Soil Science Society of America Proceedings* 37:307-314. 1973.
17. RUSSELL, E. W. *Soil conditions and plant growth*. Longman Group Publications Co., London. 1973. 849 p.
18. STEEL, R. G. and TORRIE, J. H. *Principles and procedures of statistics*. McGraw-Hill Publications Co., New York. 1960. 481 p.
19. STILL, S. M., GARTNER, J. B. and HUGHES, T. D. Effects of sawdust age and nitrogen application on chrysanthemums grown in white oak sawdust medium. *For. Products J.* 22:111-114. 1972.
20. YOCUM, T. R., SAUPE, D. C. and SIPP, S. K. Shredded hardwood bark mulch an effective material for erosion control and roadside slope stabilization. Dept. of Forestry, University of Illinois, Forest Research Rept. 71-4. 52 p. 1971.

# ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

ORGANO OFICIAL DE LA  
SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION

---

VOL. XXXI

---

JUNIO, 1981

---

No. 2

---

## CONTENIDO

JUSTO RECONOCIMIENTO A DOS DISTINGUIDOS CIENTIFICOS CENTROAMERICANOS	217
<b>ARTICULOS GENERALES</b>	
Deficiencia de lactasa: frecuencia, modo de herencia e implicaciones prácticas. — <i>Rubén Lisker</i>	223
Child poverty in South America: reflections on its magnitude, and the basic-need developmental approach. A retrospect on the international year of the child. — <i>Ernesto Pollitt</i>	235
<b>TRABAJOS DE INVESTIGACION</b>	
Sensibilidade de diferentes métodos biológicos para diferenciar valor protéico de alguns alimentos. — <i>R. C. de Angelis e L. A. Amaral</i>	253
Cambios en la concentración de algunos componentes del grano de maíz infestado por <i>Prostephanus truncatus</i> , Horn, <i>Sitophilus zeamais</i> , Mots, o <i>Sitotroga cerealella</i> , Oliver. — <i>Esbaido Adem y Héctor Bourges</i>	270
Efeito da ingestão de frações de soja crua ou autoclavada sobre a tireoide de ratos. — <i>Tulia M. C. C. Filisetti e Franco M. Lajolo</i>	287
Treinamento e padronização do pessoal para a realização de um estudo antropométrico em escolares — <i>Luis Manuel Guimarey, Aquiles Eugenio Piedrabuena e Antonio de Azevedo Barros Filho</i>	303
Chemical and biological evaluation of fifteen triticale cultivars. — <i>Armando Shimada and T. R. Cline</i>	314
Harina de <i>Cassia aphylla</i> . Estudio de la composición química y calidad biológica de la proteína. — <i>S. I. L. de Mucciarelli, M. L. de Arellano, José A. del Cid y M. S. Giménez</i>	324
Formulación de una bebida de alto valor nutritivo a base de arroz. — <i>Marisa J. Guerra, Dolores González, Werner G. Jaffé y Mariela Calderón</i>	337
Semillas oleaginosas del trópico americano. — <i>Jorge Zúñiga Rojas</i>	350
Frijol extruido: potencialidad de su utilización en la alimentación infantil. — <i>Nelly Pak y Héctor Araya</i>	371
Combinación de semilla de colza (raps) ( <i>Brassica napus</i> ) y cebada en la alimentación de pollos de engorde (broilers). I. Aspectos nutricionales. — <i>Aida Cubillos y Rosmarie Fuschlocher</i>	384
GRUPO PERMANENTE DE TRABAJOS DE LA SLAN EN SISTEMAS DE VIGILANCIA ALIMENTARIA-NUTRICIONAL	395
BIBLIOGRAFIA LATINOAMERICANA	399
NUEVOS LIBROS	407
NOTAS	409
CONTENIDO DE LA REVISTA TURRIALBA: Volumen 31, No. 1, 1981	413
CONTENIDO DE LA REVISTA INTERCIENCIA: Volumen 6, No. 1, 2 y 3, 1981	415
INFORMACION PARA LOS AUTORES	423

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DEL FOSFORO EN SUELOS ACIDOS.  
I. CARACTERISTICAS DE ADSORCION Y FRACCIONES DE P EN UNA  
TIERRA PARDA DEL NOROESTE DE ESPAÑA.<sup>1</sup>\*/

J. ARINES\*\*  
Ma. TERESA ALVAREZ\*\*

Abstract

*P adsorption isotherm and P fractions were used to study the P adsorption characteristics of an acid brown soil from Galicia (North West of Spain). Adsorption data were adjusted to Freundlich, Langmuir, and Gunary equations, and to the parameter X/logC proposed by Bache and Williams.*

*Results show that data adjusted well to the Freundlich equation for equilibrium concentration values between 1-12 ppm P. Between 0-12 ppm P, the adsorption is best described by the Gunary equation. It is suggested the operation of two mechanisms with maximum adsorption values of 226 and 463 ppm P.*

*Fractionation of soil P shows that adsorption occurs mainly as P-Al.*

Introducción

**L**a adsorción de P por el suelo se estudia generalmente por medio de su isotermia de adsorción, definida como la curva que relaciona la cantidad de sustancia adsorbida en una interfase, con su concentración en equilibrio en el medio en contacto con la misma.

Las ecuaciones que describen la adsorción se fundamentan en las de Freundlich y Langmuir, cuyas diferencias básicas son que la primera admite la variación de la energía de enlace con la cantidad adsorbida, y la última permite calcular un máximo de adsorción.

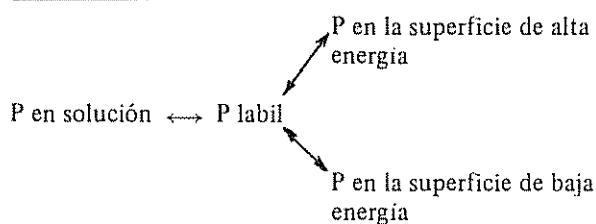
La capacidad de adsorción está muy relacionada con el contenido en arcilla y su naturaleza. Así, Olsen y Watanabe (14) obtienen una correlación significativa entre el máximo de adsorción y el área superficial del suelo aumentando aquél con el contenido en arcilla, y Fox *et al.* (6), encuentran en latosoles de Hawaii que el suelo que presenta mayor adsorción es aquél que contiene arcillas amorfas, en comparación con otros que contienen arcillas de tipo 1:1 ó 1:2.

Las modificaciones más interesantes de la ecuación de Langmuir se deben a dos autores. Gunary (7) introdujo un término adicional a la ecuación que le permitió un mejor ajuste de los datos experimentales, proporcionando también un máximo de adsorción. Teniendo en cuenta que la ecuación de Langmuir implica una energía de enlace constante y que los resultados experimentales sugieren al menos dos mecanismos de adsorción con energía de enlace diferente, Holford *et al.* (11) desarrollaron una ecuación de dos superficies o ecuación doble de Langmuir. El excelente ajuste obtenido sugiere que el fosfato se adsorbe sobre dos tipos de superficies de energía de enlace diferente. Con esta base, Holford y Mattingly (9) proponen el esquema de compartimiento siguiente:

1 Los autores agradecen al Dr. D. Ramón Fábregas, Jefe de la U.E.I. de Fertilidad de Suelos y Nutrición Vegetal, la supervisión del manuscrito.

\* Recibido para publicación el 11 de marzo de 1980.

\*\* Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia, del C.S.I.C. U.E.I. de Fertilidad de Suelos y Nutrición Vegetal. Apartado 122 Santiago de Compostela. España.



Además de estas dos importantes modificaciones, Shayan y Davey (18) ensayan en 17 suelos la aplicación de una isoterma adimensional con buenos resultados; la principal ventaja de la misma parece ser el amplio número de concentraciones que puede describir.

Junto a estas ecuaciones que tienen por objeto establecer el comportamiento del P del suelo, parece conveniente citar un trabajo de Bache y Williams (1) en el que, tratando de obtener un índice que describa adecuadamente las características de adsorción de los suelos, comparan diferentes parámetros relacionados con las isotermas. Utilizando datos procedentes de las isotermas de 42 suelos escoceses, encuentran que el índice  $X/\log C$  (siendo X el fosfato adsorbido y C la concentración en equilibrio) para una adición de 50  $\mu\text{moles P/g}$  de suelo puede medir adecuadamente la isoterma de adsorción.

Diversos aspectos relacionados con la aplicación de las isotermas de adsorción son discutidos por Barrow (2) en un interesante estudio en el que, además, aporta datos de una investigación realizada en suelos australianos con el objeto de comparar distintas ecuaciones de adsorción. En este sentido, la conclusión es que para tales suelos se prefiere la isoterma de Freundlich.

Si bien las isotermas indican cómo varía la adsorción con la cantidad de P que se pone en contacto con el suelo, no proporcionan información acerca de la ubicación del P adsorbido en las distintas fracciones activas del suelo. Esta información se puede obtener aplicando la técnica de fraccionamiento preconizada por Chang y Jackson (3) modificada por diversos autores y discutida por Smith (20) especialmente en lo que se refiere a la fracción P-Al.

Con el objeto de conocer las propiedades de adsorción de suelos ácidos de Galicia, y su relación con la necesidad de fertilización fosfatada de los cultivos, hemos realizado los experimentos necesarios para lograr ambos objetivos utilizando una tierra parda y trébol violeta como sustrato y cultivo, respectivamente.

## Material y métodos

### Suelo utilizado

Se empleó la capa superficial (20 cm) de una tierra parda limosa sobre esquistos, localizada en una parcela muy fertilizada del Instituto de Investigaciones Agrobiológicas hasta el año 1973. La muestra se recogió en 1979. Sus características son:

pH en agua .....	5.86
pH en KCl 0,1N .....	5.32
M. O. ....	5.97 g%
C/N .....	13.57

Textura: Franco-arenosa

### Elementos extraídos con Morgan

P: .....	7.13 ppm
K: .....	78.75 ppm
Ca: .....	1 012.50 ppm
Mg: .....	32.56 ppm
Fe: .....	2.56 ppm
Al: .....	26.63 ppm
Mn: .....	2.50 ppm

El pH se determinó empleando una relación suelo: solución de 1:2.5 con un tiempo de incubación de 24 horas. Los elementos se extrajeron con solución Morgan a pH 4.8, determinándose el P, Al, Fe, Mn y Mg según Schuffelen (17), y el Ca y K por fotometría de llama con adición de AEDI. El carbono orgánico por el método de Leal y Fábregas (13), en el N por Kjeldhal.

### Isoterma de adsorción

Se siguió el procedimiento descrito por Fox y Kamprath (5) incrementando el tiempo de incubación hasta en 8 días. Las cantidades de fosfato ( $\text{H}_2\text{KPO}_4$ ) añadidas, en solución, fueron de 0, 12, 5, 25, 50, 100, 200, 250, 350 y 500 ppm P, haciendo 4 repeticiones de cada tratamiento. El P se determinó en el sobrenadante con molibdato amónico y cloruro estannoso, siendo las condiciones de la solución de medida las siguientes: concentración de molibdato, 0.1N; concentración de Sn, 0.0024 por ciento; y acidez 0.4N, aproximadamente. Conociendo la cantidad añadida de P y su concentración en el sobrenadante, se determina el P adsorbido.

Los valores obtenidos con las distintas adiciones de P, se corrigieron restándole los encontrados con el tratamiento PO (control) al objeto de reflejar únicamente el efecto del P que se adicionó.

### Fraccionamiento

Las muestras para el fraccionamiento se obtuvieron después de incubar en cristalizadores de vidrio 400 g de suelo con 0, 44.44, 88.88, y 133.32 ppm P (aplicado en solución acuosa), equivalentes a 0, 100, 200 y 300 kg de P/ha. Cada adición se repitió 3 veces. A los 38 días se tomaron muestras, se secaron al aire, y de ellas se tomó 1 g para el fraccionamiento. Este se realizó en tubos de centrífuga con la fracción menor de 2 mm de suelo, según el procedimiento siguiente:

### Isoterma de Freundlich

La isoterma se representa en una forma lineal en la Figura 2A. Como puede observarse, los puntos experimentales sólo se ajustan a la ecuación de la recta para valores de concentración superiores a 28.87  $\mu\text{M}$  ó 1.025 ppm. Por regresión lineal se ha obtenido la ecuación:

$$\log X = 0.083 + 0.393 \log C; r = 0.996; s_{yx} = 0.0146$$

### Fraccionamiento

Fracción	Extractor	Tiempo de agitación	Lavado del residuo
P-soluble	50 ml de $\text{NH}_4\text{Cl}$ 1N	1 hora	25 ml de sol. sat. CINa
P-Al	50 ml de $\text{NH}_4\text{F}$ 0.5N a pH 8 (x)	1 hora	25 ml de sol. sat. CINa
P-Fe	50 ml de NaOH 0.1N	17 horas	25 ml de sol. sat. CINa
P-soluble en reductor (xx)	25 ml de $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.3 M + $\text{S}_2\text{O}_4\text{Na}_2$ (1 g)	8 minutos al baño María	25 ml de sol. sat. CINa
P-Ca	50 ml de $\text{H}_2\text{SO}_4$ 0.5N	1 hora	agua destilada
P-orgánico residual	Calcinación a 550°C y extracción con HCl 1N (50 ml)	1 hora	

(x): según Uriyo y Kesseba (23)

(xx): para la determinación del P en esta fracción se juntan el extracto y la solución de lavado

Para la determinación del P en los extractos, la interferencia del ión  $\text{F}^-$  en la fracción P-Al se eliminó con ácido bórico 0.8M (12), la interferencia de la materia orgánica en la fracción P-Fe con gotas de ácido sulfúrico concentrado (16) ajustando el pH con p-nitrofenol como indicador antes de la adición de los reactivos, y las interferencias de ditionito y citrato en la fracción P-soluble en reductor por burbujeo de aire y solución acuosa de molibdato al 5 por ciento (24). El color azul se desarrolló con molibdato y cloruro estannoso, leyéndose las absorbancias a 608 nm.

El análisis estadístico de los resultados se hizo siguiendo los métodos publicados por Snedecor y Cochran (21).

### Resultados

En la Figura 1 se representan los valores medios modificados del P adsorbido ( $\mu\text{moles P/g suelo}$ ) frente a la concentración de P en la solución en equilibrio ( $\mu\text{M}$ ). De ella se han calculado los valores de la capacidad tampón (CT) como las pendientes de las tangentes a la curva en los puntos elegidos.

en la que tanto la pendiente de la recta como el coeficiente de correlación son significativos al nivel del 1%.

### Isoterma de Langmuir

Se representa en la Figura 2B, omitiendo los 4 primeros puntos experimentales (de un total de 9) por presentar una distribución anárquica. El ajuste de los cinco últimos (los mismos que en la ecuación de Freundlich) proporcionan la siguiente ecuación:

$$C/X = 5.64 + 0.067 C; r = 0.989; s_{yx} = 1.1416$$

en la que son significativos al 1% la pendiente de la recta y el coeficiente de correlación, y al 5% el término independiente.

A partir de la ecuación se han calculado el máximo de adsorción ( $X_m$ ) y la energía de enlace ( $a$ ) resultando:

$$X_m = 462.67 \mu\text{g P/g suelo}; a = 11.88 \cdot 10^{-3} \mu\text{M}^{-1}$$

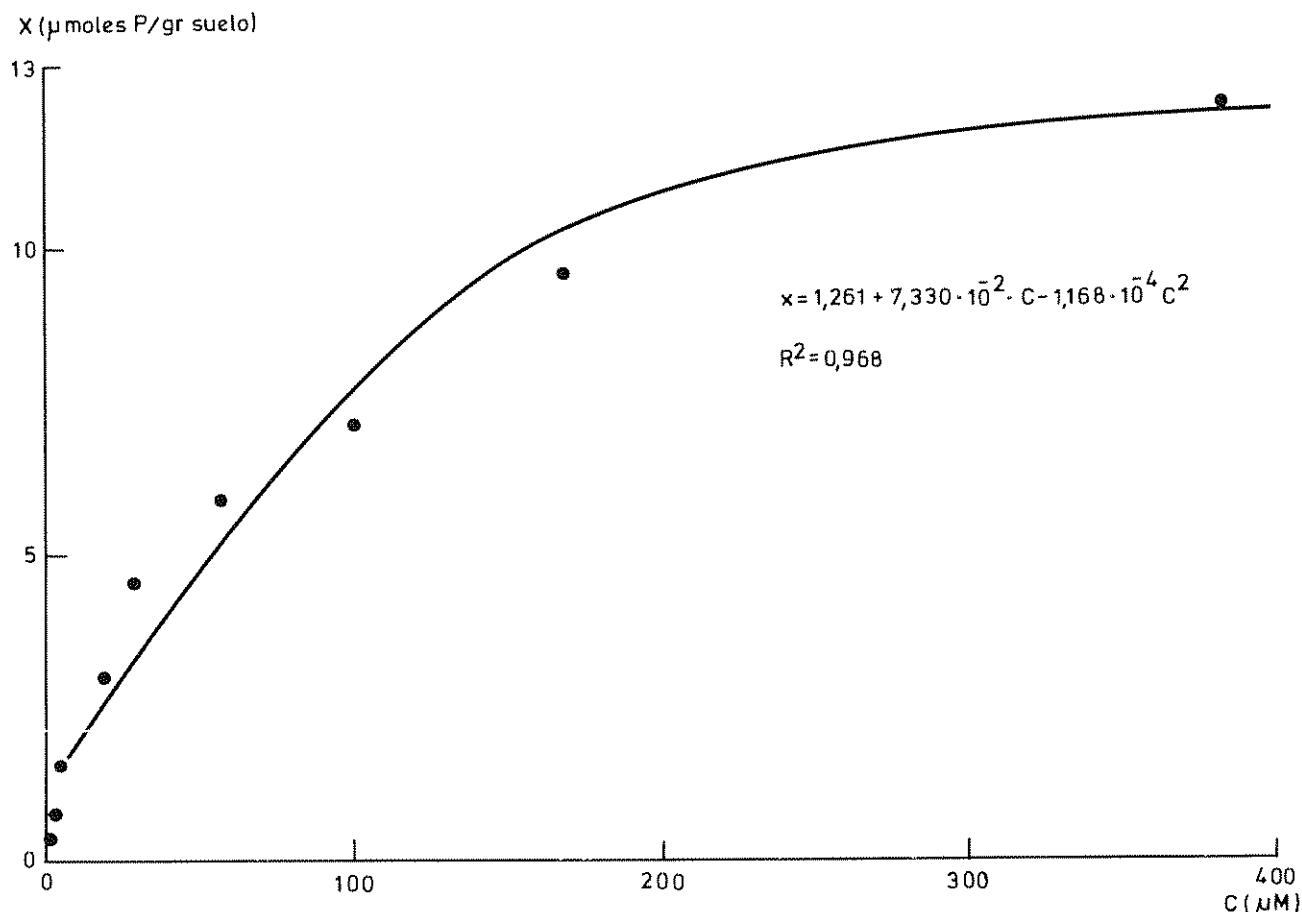


Fig. 1 Isoterma de adsorción X = P adsorbido en  $\mu$  moles de P/g suelo.  
C = Concentración de P( $\mu$ M) en el equilibrio.  
● = Puntos experimentales.

#### Isoterma de Gunary

Por regresión múltiple de todos los puntos experimentales ( $n = 9$ ) se ha obtenido la ecuación:

$$C/X = 0.87 + 0.045 \cdot C + 0.572 \cdot C^{1/2}; R^2 = 0.992$$

en la que el coeficiente "C" es significativo al 1% y el de " $C^{1/2}$ " al 5%.

Transformando la ecuación en la forma:

$$1/X = B + A/C + D/C^{1/2}$$

se obtiene el máximo de adsorción dado por:

$$\text{Máx. de adsorción} = 1/B = 688.82 \mu\text{g P/g suelo}$$

La regresión lineal de los valores estimados de  $C/X$  [ $(C/X)_e$  en la figura] a partir de la ecuación múltiple frente a  $C$ , permite obtener la ecuación de la recta que se representa en la Figura 2C.

$$(C/X)_e = 2.734 + 0.072 \cdot C; r = 0.994; s_{yx} = 1.0095$$

en la que todos los coeficientes son significativos al 1%.

#### Parámetro de Bache y Williams

El parámetro  $X/\log C$  propuesto por Bache y Williams presenta un crecimiento continuo con la adición de P en el intervalo estudiado (concentraciones en superficie de 0 a 13  $\mu$ moles P/g suelo). Tal comportamiento nos ha llevado a estudiar su regresión lineal frente a "C" con el resultado siguiente:

$$X/\log C = 2.337 + 7.7 \cdot 10^{-3} \cdot C; r = 0.839; s_{yx} = 0.6656$$

en la que todos los coeficientes son significativos al 1%.

La recta de regresión se representa en la Figura 2D.

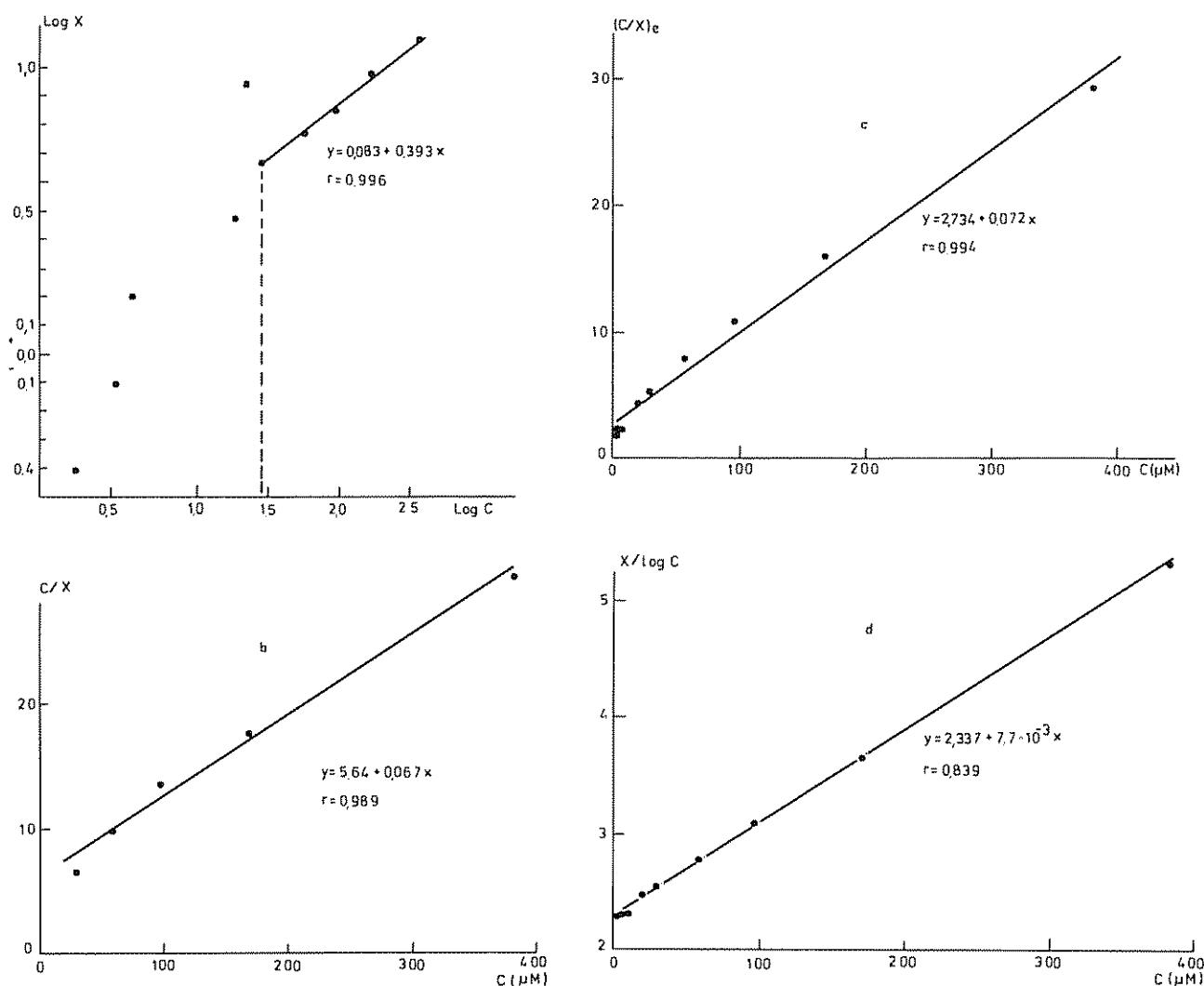


Fig. 2 a) Isoterra de Freundlich. b) Isoterra de Langmuir. c) Isoterra de Gunary. d) Variación del parámetro de Bache y Williams. X, C y ●: ver Fig. 1.  $(C/X)_e$  = Valores estimados de  $C/X$  a partir de la ecuación con término de raíz cuadrada de Gunary

#### Capacidad tampón

La variación de la CT frente a la concentración de P en equilibrio se representa en la Figura 3.

#### Porcentaje de P adsorbido

En la Figura 4 se representa la variación del P adsorbido con el P añadido. La ecuación de la línea de regresión, en la que todos los coeficientes son significativos al 1%, es:

$$\% \text{ P adsorbido} = 98,15 - 0,04 \cdot \text{P añadido (ppm)}; \\ r = 0,977$$

#### Fraccionamiento del P adsorbido

El valor medio de la cantidad de P extraída en cada fracción se presenta en el Cuadro 1. En el Cuadro

2, se indica el resultado del análisis de varianza de las fracciones.

La cantidades totales de P extraídas en los tratamientos PO, P100, P200 y P300, fueron de 359,29, 403,00, 432,63 y 473,61, respectivamente.

En el Cuadro 3 se presenta la distribución porcentual por fracciones del P recuperado en cada uno de los tratamientos.

#### Discusión

La representación del P adsorbido frente a la concentración del mismo en la solución en equilibrio (Figura 1) nos muestra una isoterra en la que

Cuadro 1. Valores medios de la cantidad de P extraído en cada fracción en ppm.

Fracción	Tratamientos			
	PO	P100	P200	P300
P-soluble	2.54 ( 0.08)	3.88 ( 0.00)	7.60 ( 1.37)	8.20 ( 0.87)
P-Al	188.22 ( 13.60)	207.67 ( 10.70)	234.73 ( 16.84)	255.56 ( 2.41)
P-Fe	87.22 ( 10.75)	100.84 ( 18.05)	98.34 ( 13.77)	113.34 ( 0.00)
P-soluble en reductor	35.20 ( 4.46)	38.44 ( 4.24)	39.83 ( 7.65)	40.29 ( 2.78)
P-Ca	33.06 ( 2.78)	32.50 ( 1.44)	31.67 ( 1.66)	35.55 ( 3.85)
P-orgánico residual	17.06 ( 0.67)	19.67 ( 1.70)	20.67 ( 0.60)	20.67 ( 0.60)
% P recuperado	—	98.36	82.74	85.75

( ) = error estándar de la media.

Cuadro 2. Análisis de varianza de las fracciones de P.

Concepto	P-soluble	P-Al	P-Fe	P-soluble en reductor	P-Ca	P-orgánico residual
Valor "F" para tratamientos	26.17xx	13.04xx	2.44	0.11	1.71	2.01
DMS al 5% (ppm)	1.44	20.69	—	—	—	—

xx = significativo al nivel del 1%

DMS = diferencia mínima significativa entre tratamientos.

Cuadro 3. Distribución porcentual del P recuperado.

Fracción	Tratamientos		
	P100	P200	P300
P-soluble	3.02	5.69	4.24
P-Al	43.77	52.32	50.51
P-Fe	30.64	12.51	19.59
P-sol en red	16.30	9.71	6.82
P-Ca	1.24	1.56	1.87
P-org residual	5.88	4.06	2.71

la cantidad adsorbida disminuye al aumentar la saturación total con las adiciones de fosfato empleadas.

La aplicación de las isotermas de Freundlich y Langmuir al suelo objeto de estudio, revela que éste no se ajusta totalmente a ninguna de ellas para valores de concentración en solución inferiores a 1 ppm P. Para valores superiores, la adsorción es significativamente representada por ambas isotermas, siendo superior el ajuste a la de Freundlich como se demuestra comparando tanto los coeficientes de correlación como las desviaciones típicas de las regresiones. También en concentraciones inferiores a 1 ppm los datos se ajustarían mejor a la isoterma de

Freundlich; mientras que en ésta los puntos se distribuyen en una forma ordenada, curvilínea, en la de Langmuir su distribución es anárquica. La isoterma de Freundlich, con un punto de ruptura curvilínea-lineal a una concentración en solución próxima a 1 ppm, sugiere dos mecanismos de adsorción de propiedades diferentes.

El ajuste de los puntos experimentales a la ecuación de Gunary presenta un coeficiente de determinación de 0.992, lo que permite decir que dicho modelo representa adecuadamente las propiedades del suelo con respecto al fósforo en todo el rango de adiciones de fosfato. Es de señalar, además que mientras la ecuación de Langmuir proporciona un máximo de adsorción de 462.67 ppm, la ecuación modificada por Gunary permite calcular un máximo

de 688.82 ppm. Es posible que la diferencia sea debida a adsorción en el rango de concentraciones en soluciones inferiores a 1 ppm. Se puede postular entonces la operatividad de dos mecanismos: uno a baja concentración con un máximo de adsorción de 226.15 ppm, de alta energía de enlace y baja disponibilidad de P, y otro operativo a concentraciones superiores con un máximo de adsorción de 462.67 ppm, con baja energía de enlace y elevada disponibilidad del P adsorbido.

La capacidad tampón disminuye con la adición de fosfato al suelo, y su importancia ha sido discutida, entre otros, por Ozanne y Shaw (15), Holford y Mattingly (10) y Holford (8). Por lo tanto, con respecto a nuestros resultados sólo indicaremos que (Figura 3) se puede establecer un punto crítico (fle-

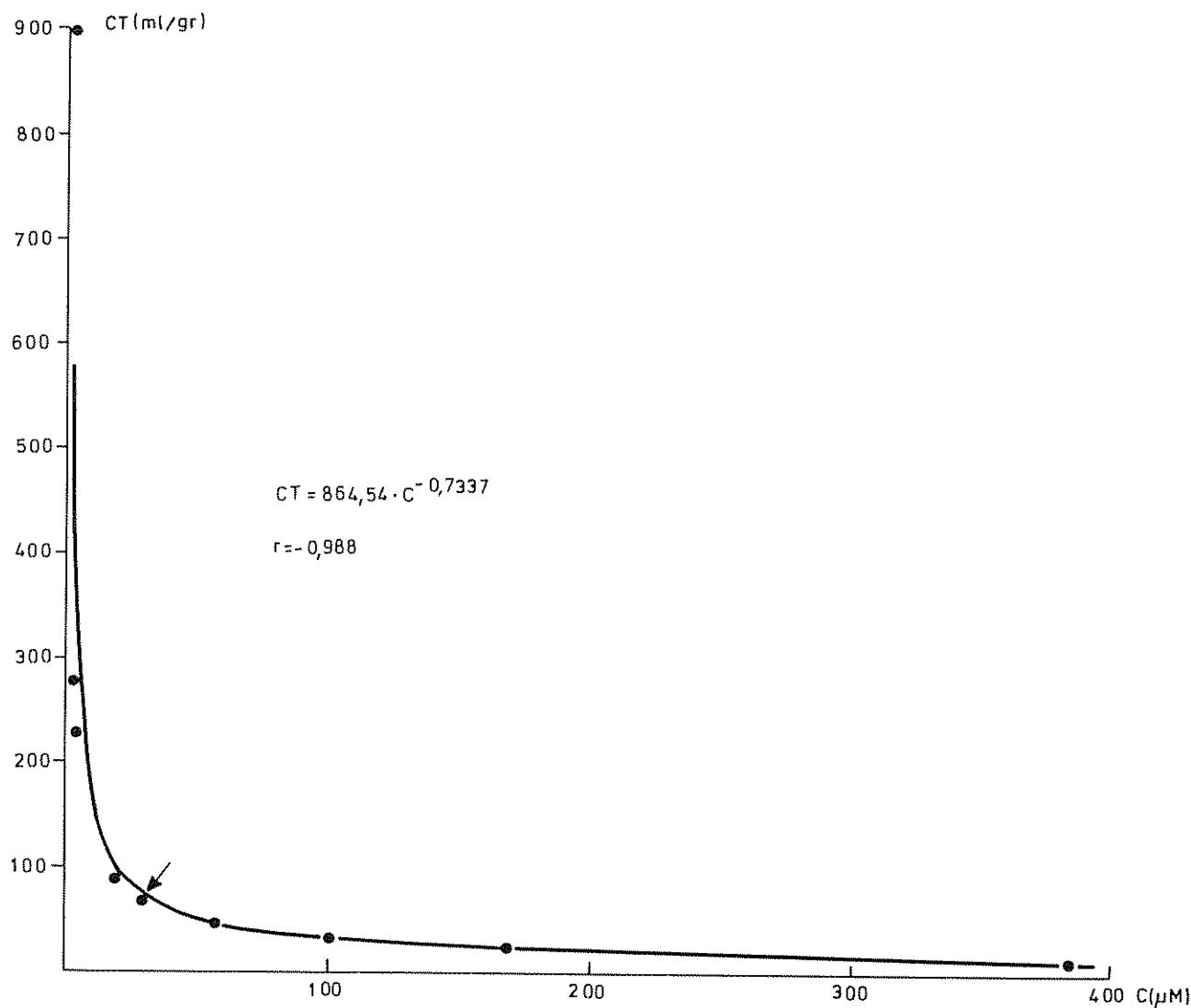


Fig. 3 Variación de la capacidad tampón (CT, en ml/g) con la concentración de P(μM) en la solución.

cha en la Figura 3) a partir del cual no existiría limitación a la disponibilidad de P en la planta, que correspondería a una CT del orden de 80 ml/g o una concentración en la solución próxima a 1 ppm P.

La Figura 4 pone de manifiesto que el por ciento de P adsorbido disminuye progresivamente, de forma que puede ser lineal, con la cantidad de P añadido. Es pues imprescindible cuando se den datos de adsorción el indicar la cantidad de fosfato adicionado.

El estudio de las distintas fracciones de P pone de relieve que en su estado natural el fósforo se encuentra ligado preferentemente al aluminio y al hierro, correspondiendo a la fracción P-Al un 52 por ciento y a la P-Fe un 24 por ciento, del total. El análisis estadístico del efecto de los tratamientos, para cada fracción, indica que sólo son significativos los que se

refieren al P extraído con  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y con  $\text{NH}_4\text{F}$ , es decir, a las fracciones P-soluble y P-Al, lo que sugiere que las variaciones habidas en el resto de las fracciones están dentro de los límites del error experimental. Esta sugerencia viene apoyada por el hecho de que para el periodo de incubación utilizado no deben esperarse cambios en las fracciones menos reactivas, de acuerdo con resultados obtenidos por Shelton y Coleman (19) quienes después de fertilizar no encuentran P soluble en el reductor ni oculto en forma consistente hasta los 3 años de la aplicación, y en el periodo inicial la mayor parte del P añadido se encuentra en la fracción P-Al.

El aumento del P-soluble y del P-Al es especialmente importante para las plantas, el del primero por razones obvias y el del segundo porque el P-Al es de 1.11 a 2.8 veces más activo que el P-Fe (22) y por

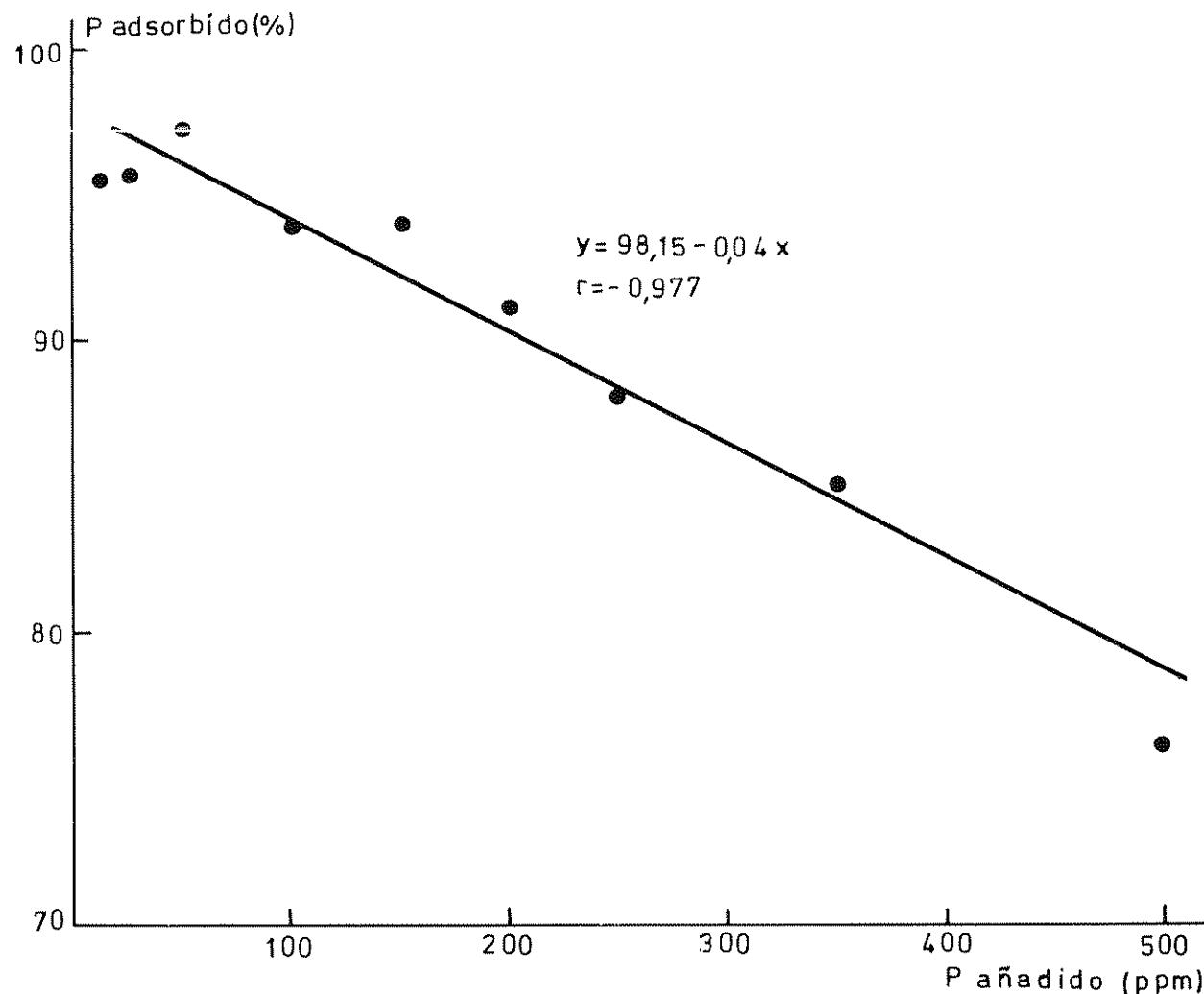


Fig. 4. Variación del P adsorbido con el P añadido.

existir una buena correlación entre el P-Al y el P extraído con HCl 0.05N + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.025N (19), representativo en muchos casos del P asimilable.

El porcentaje de recuperación del fosfato no sigue una tendencia que se pueda relacionar con la cantidad añadida, observándose que es apreciablemente superior la obtenida con el tratamiento P100. Esta falta de relación también se observa en resultados obtenidos por Yuan *et al* (25).

Aunque ya hemos señalado que no existen diferencias significativas entre tratamientos en los resultados de la fracción P-Ca, llama la atención el hecho de encontrar valores negativos, con respecto al control, con los tratamientos P100 y P200. Un resultado similar, cualitativamente, es obtenido por Fassbender (4) en muestras de suelos de profundidad superior a 7.5 cm, justificando tal resultado mediante una transformación del fosfato cálcico nativo. El balance positivo encontrado con el tratamiento P300 puede ser debido a la presencia de un exceso de fosfato que desplaza el equilibrio en el sentido de la adsorción.

### Resumen

Fueron estudiadas las características de adsorción de P de una tierra parda del noroeste de España, mediante la determinación de su isoterma de adsorción y las fracciones del P adsorbido. Los datos de adsorción se ajustaron a las ecuaciones de Freundlich, Langmuir y Gunary, y se estudió la variación del parámetro X/logC propuesto por Bache y Williams.

Los resultados indican que para valores de concentración en solución superiores a 1 ppm de P, los datos se ajustan bien a la isoterma de Freundlich. En toda la gama de concentraciones, la ecuación que mejor representa el comportamiento del P es la de Gunary. Se sugiere la existencia de dos mecanismos de adsorción con máximos a 226 y 462 ppm.

El fraccionamiento revela que la adsorción ocurre preferentemente como P-Al.

### Literatura citada

1. BACHE, B. W. and WILLIAMS, E. G. A phosphate sorption index for soils. *Journal of Soil Science*, 22:289-301 1971
2. BARROW, N. J. The description of phosphate adsorption curves. *Journal of Soil Science*, 29:447-462. 1978.
3. CHANG, S. C. and JACKSON, M. L. Fractionation of soil phosphorus. *Soil Science*, 84: 133-144. 1957.
4. FASSBENDER, H. W. Forms of phosphate after nine years of superphosphate fertilization of cacao. *Agrochimica*, 13:39-43. 1969.
5. FOX, R. L. and KAMPRATH, E. J. Phosphate sorption isotherm for evaluating the phosphate requirements of soils. *Soil Science Society of America Proceedings*, 34:902-907. 1970.
6. FOX, R. L.; PLUCKNETT, D. L. and WHITNEY, A. S. Phosphate requirements of Hawaiian latosols and residual effects of fertilizer phosphorus. *Transactions of the 9th International Congress of Soil Science*, Adelaide, Australia, Vol. 2:301-310. 1968.
7. GUNARY, D. A. new adsorption isotherm for phosphate in soils. *Journal of Soil Science*, 21:72-77. 1970.
8. HOLFORD, I. R. C. Effects of phosphate buffer capacity of soil on the phosphate requirements of plants. *Plant and Soil*, 45:433-444. 1976.
9. HOLFORD, I. R. C. and MATTINGLY, G. E. G. A model for the behaviour of labile phosphate in soil. *Plant and Soil*, 44:219-229. 1976.
10. HOLFORD, I. R. C. and MATTINGLY, G. E. G. Phosphate adsorption and availability plant of phosphate *Plant and Soil*, 44:377-389. 1976.
11. HOLFORD, I. R. C. WEDDERBURN, R. W. M. and MATTINGLY, G. E. G. A Langmuir two-surface equation as a model for phosphate adsorption by soils. *Journal of Soil Science*, 25:242-255. 1974.
12. JACKSON, M. L. *Soil Chemical Analysis* Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N. J. 1958. 498 p.
13. LEAL, A. y FABREGAS, R. Determinación de carbono orgánico en suelos. *Anales de Edafología y Agrobiología*, 29:245-252. 1970.
14. OLSEN, S. R. and WATANABE, F. S. A method to determine a phosphorus adsorption maximum of soils as measured by the

- Langmuir isotherm. Soil Science Society of America Proceedings, 21:144-148. 1957.
15. OZANNE, P. G. and SHAW, T. C. Advantages of the recently developed phosphate sorption test over older extractant methods for soil phosphate. Transactions of the 9th International Congress of Soil Science, Adelaide, Australia, Vol. 2:273-280. 1968.
16. PETERSEN, G. W. and COREY, R. B. A modified Chang and Jackson procedure for routine fractionation of inorganic soil phosphorus. Soil Science Society of America Proceedings, 30:563-565. 1966.
17. SCHUFFELEN, A. C.; MULLER, A. and VAN SCHOUWENBURG, J. Ch. Quicktests for soil and plant analysis used by small laboratories. Netherland Journal of Agricultural Science, 9:2-16. 1961.
18. SHAYAN, A. and DAVEY, B. G. A universal dimension-less phosphate adsorption isotherm for soil. Soil Science Society of America Journal, 42:878-882. 1978.
19. SHELTON, J. E. and COLEMAN, N. T. Inorganic phosphorus fractions and their relationship to residual value of large applications of phosphorus on high phosphorus fixing soils. Soil Science Society of America Proceedings, 32:91-94. 1968.
20. SMITH, A. N. Fractionation of inorganic phosphorus in soils. The Chang and Jackson Fractionation procedure: its limitation and uses. Agricultural Digest, No. 17:10-19. 1969.
21. SNEDECOR, G. W. y COCHRAN, W. G. Métodos estadísticos aplicados a experimentos en agricultura y biología. 5a. Edición CECSA, México. 1970. 626 p.
22. TANDON, H. L. S. and KURTZ, L. T. Isotopic exchange characteristics of aluminium - and iron- bound fractions of soil phosphorus. Soil Science Society of America Proceedings, 32:799-802. 1968.
23. URIYO, A. P. and KESSEBA, A. An evaluation of  $\text{NH}_4\text{F}$  as a selective extractant for aluminium phosphate in two soils of the tropics. Geoderma, 8:207-220. 1972.
24. WEAVER, R. M. A simplified determination of reductant-soluble phosphate in soil phosphate fractionation schemes. Soil Science Society of America Proceedings, 38:153-154. 1974.
25. YUAN, T. L.; ROBERTSON, W. K. and NELLER, J. R. Forms of newly fixed phosphorus in three acid sandy soils. Soil Science Society of America Proceedings, 24:447-450. 1960.

# EFFECTOS DEL DESECAMIENTO DEL SUELO SOBRE EL METABOLISMO DE NITROGENO EN TRES CULTIVARES DE MAIZ (*Zea mays L.*)<sup>1</sup> \*

ROBERTO PEREYRA ROSSILO \*\*  
MANLIO SILVESTRE FERNANDES \*\*  
NELSON MAZUR \*\*

## Abstract

*The effects of water stress on the nitrogen metabolism of three corn (*Zea mays L.*) cultivars (Piranão, Centralmex, IPEACS III) were studied.*

*Measurements were made of the Relative Water Content (R. W. C.); nitrate-reductase activity (NRA) as well as accumulation of amino-N, ammonia-N, free proline and protein-N in the plant tissues.*

*Cultivar Piranão kept a higher RWC and NRA through the desiccation period, and accumulated the lowest levels of ammonia-N and amino-N in its foliar tissues.*

*The performance of cultivar Centralmex was poor but cultivar IPEACS III was the most severely affected by the imposed water stress regime in terms of the metabolic parameters studied.*

*All three cultivars exponentially accumulated proline with the length of the stress period. It is suggested that further studies should be done on proteolytic activities and de novo synthesis of proline for a better understanding of the effects of metabolites accumulation on water stress resistance in corn plants.*

## Introducción

**E**l maíz (*Zea mays L.*) es particularmente sensible a la deficiencia hídrica en la fase de floración (18). Durante la fase vegetativa, los daños son menos señalados. Sin embargo, una sequía moderada en esta fase puede determinar pérdidas en el rendimiento final del orden de 25 por ciento (5).

En condiciones de deficiencia hídrica del suelo, las plantas sufren un conjunto de alteraciones metabólicas, verificándose, globalmente, una inhibición de los procesos anabólicos y un aumento de los procesos catabólicos, con la consiguiente reducción en la disponibilidad energética para otras funciones fisiológicas. La reducción foliar de nitratos, vía Nitrato-reductasa (NR) cae drásticamente (14). Esta disminución de actividad es atribuida a los efectos combinados de una reducción en la absorción de N-nítrico, que es un proceso dependiente de energía metabólica (17), y a un efecto directo de la desecación foliar sobre la síntesis proteica, la cual es inhibida en estas condiciones (8).

A niveles más severos de desecación foliar, la actividad de enzimas proteolíticas también puede contribuir para reducir los tenores de proteína foliar (15). En consecuencia, se verifica una acumula-

1 Presentado en el XVII Congresso Brasileiro de Ciéncia do Solo Manaus, julio de 1979.

\* Recibido para publicación el 3 de diciembre de 1980

\*\* Profesor Asistente, Profesor Adjunto y Profesor Auxiliar de Ensino, respectivamente, del Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRJ), Antiga Estr Rio-São Paulo, km 47 - 23460 - Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil.

ción de aminoácidos y amidas en los tejidos (15). Un compuesto cuyo tenor aumenta significativamente en estas condiciones es prolina (19, 7, 9, 12). Se ha dedicado una atención considerable a la acumulación de prolina, en vista de que algunos resultados muestran una correlación positiva entre tolerancia o resistencia a la sequía y el nivel de acumulación de este aminoácido (19). Otros autores han presentado evidencias de que la acumulación de prolina puede ser un indicio de susceptibilidad antes que de resistencia a los efectos de la sequía (7); de tal forma que la significación metabólica de este proceso está abierta a diversos tipos de interpretaciones (7).

Varias de las respuestas arriba mencionadas han sido observadas en el maíz, pero, en la mayoría de las veces, fueron agregados, en medios de cultivo artificiales, diferentes solutos para rebajar el nivel del potencial hídrico de la solución a valores prefijados. Esta metodología ofrece la ventaja de un mayor control sobre el grado de la deficiencia hídrica impuesta, pero la cuestión subyacente es saber si las respuestas observadas en esas condiciones pueden ser consideradas como similares a las verificadas por efectos de variaciones hidráticas en el propio suelo.

En este trabajo se examinan las alteraciones del metabolismo del nitrógeno en tres cultivares de maíz, en respuesta a un ciclo de desecamiento progresivo del suelo bajo condiciones de demanda evapotranspirativa variable.

#### Material y métodos

El experimento fue realizado en un invernadero, entre los meses de setiembre y octubre de 1977. Se usó el horizonte superficial (0-15 cm) de un suelo Podzólico rojo amarillo (Typical Hapludult) (16). Despues de secado al aire, el suelo fue pasado por un tamiz de 2 mm y sometido a análisis, revelando un contenido de Al de 0.6 mEq/100 cm<sup>3</sup> y un pH de 4.5. Despues de ser corregido el pH (0.645 g de CaO/kg suelo), el suelo presentó las siguientes características químicas: C = 1.3%; P = 1 ppm; K = 68 ppm; Ca + Mg = 4.3 mEq/100 cm<sup>3</sup>; Al = 0.1 mEq/100 cm<sup>3</sup>; N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = 9.3 ppm; N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> = 7.1 ppm; pH = 5.9.

Se utilizaron volúmenes de 2 000 cm<sup>3</sup> de suelo que previamente fueron acondicionados en macetas, a una densidad media de 1.15 g/cm<sup>3</sup>. Previamente a la siembra, los vasos fueron irrigados hasta un nivel de humedad correspondiente a una succión métrica de 0.33 atmósferas. La curva de retención de humedad del suelo utilizado fue de antemano deter-

minada por el método de Jaccoud y Castro (10). Junto con el agua de irrigación, cada vaso recibió una fertilización de 80 ppm de N, en la forma de NaNO<sub>3</sub>; 60 ppm de K y 50 ppm de P, ambos en la forma de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, y 1 ml de una solución de micronutrientos preparada según Fernandes (6).

Se usaron tres cultivares de maíz: Piranão, Central-mex e IPEACS III. En cada maceta se sembraron 4 semillas. Cinco días después de la emergencia de las plántulas, fue hecho un raleo, dejando dos plantas por maceta. Las macetas fueron pesadas diariamente y se adicionó agua suficiente para restituir el contenido de humedad a un nivel equivalente a una succión de 0.33 atmósferas. La fase experimental fue iniciada 25 días después de la emergencia de las plantas (estado de 6-8 hojas). A partir de ese día, las plantas fueron sometidas a 0, 1, 2, 3 y 4 días de deficiencia hídrica, por supresión del riego diario. Todos los tratamientos fueron repetidos 3 veces y dispuestos totalmente al azar.

La segunda hoja a partir del ápice fue usada para la determinación del contenido hídrico relativo (C. H. R.), según el método de Barrs y Weatherley (2), y preparación de los extractos foliares. Para la determinación del C. H. R., fueron tomados, de cada hoja, 10 discos foliares, de 7.0 mm de diámetro. Todos los discos fueron tomados de una misma mitad de la lámina foliar. En la mitad opuesta, en una de las plantas, fue retirado 1.0 gramo de tejido para la preparación del extracto foliar, según las técnicas descritas por Fernandes (6). Aproximadamente 200 mg de material de la misma hoja fueron usados para la determinación de la actividad de la nitrato-reductasa (ANR), según el método de Jaworski (11), ligeramente modificado por aumento de 2 por ciento de la concentración de n-propanol en el medio de incubación. Los resultados fueron expresados como μmoles de NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/g de peso fresco, por hora.

El residuo obtenido después de la extracción fue secado en estufa de circulación de aire, a 60°C por 48 horas. En el residuo seco, el N fue determinado por microKjelhdhal y denominado N-proteico (6). En el extracto alcohólico (Etanol 80 por ciento), fueron hechas las siguientes determinaciones:

Amino-N libre, según el método de Yem y Cocking (20).

N-amoniacial (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) y N-nitrico (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), por el método de destilación descrito por Bremner y Keeley (4).

Prolina libre, por el método de Bates *et al.* (3).

Todas las determinaciones analíticas fueron hechas en duplicado. La relación peso seco/peso fresco de la lámina foliar fue calculada a partir de los discos usados para la determinación del C. H. R. Esta relación sirvió para expresar todas las determinaciones con base en peso seco. El N-amino libre, el N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, el N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y la prolina libre fueron expresados como  $\mu\text{moles/g}$  de peso seco y el N-proteico como porcentaje de peso seco.

Durante todo el período de crecimiento de las plantas se midió la radiación, la humedad relativa y la temperatura del aire. La radiación media diaria fue calculada a través de cinco lecturas (9:00; 11:00; 14:00; 16:00 y 17:00 horas) hechas con un radiómetro Li-Cor, modelo Li-185. El valor obtenido en cada hora de lectura representó la media de 12 registros, tomados al azar al nivel del ápice de las plantas. Los valores son dados en  $\text{cal cm}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$ . Además, se tomaron registros diarios de humedad relativa y temperatura del aire con un termohigrógrafo.

### Resultados y discusión

Las condiciones ambientales dominantes en la estufa, durante el período de crecimiento y experimental son presentadas en el Cuadro 1. Durante los días 1 y 2, las condiciones de demanda evapotranspirativa fueron particularmente intensas, como queda indicado por los valores de radiación y temperatura media. Esto fue acompañado por una reducción de humedad relativa y un consiguiente aumento en el déficit medio de saturación. Durante los días 3 y 4 los valores de radiación y temperatura cayeron a valores próximos a los de la media para el período

de crecimiento anterior a la suspensión de la irrigación (Cuadro 1). Un análisis de la distribución horaria de la radiación incidente para todo el período, indicó un máximo a las 12:40 horas, de  $0.55 \text{ cal cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ .

Es de destacar que una cobertura blanca sobre el invernadero interceptó entre 40-50 por ciento de la radiación incidente en el interior.

Esta condición del medio ambiente determinó una reducción del C. H. R. de las plantas normalmente irrigadas (Cuadro 2). Dentro de este grupo, se verificó un efecto del aumento de la demanda evapotranspirativa, especialmente en el día 2, cuando los cultivares Piranão e IPEACS III mostraron reducciones significativas en la hidratación foliar. Dentro del grupo no irrigado, los tres cultivares mostraron un comportamiento diferencial. El cultivar Piranão mostró, en el final del período, un C. H. R. aproximadamente 10 por ciento superior a IPEACS III y 6 por ciento a Centralmex. IPEACS III mostró los menores niveles de hidratación foliar, siendo extremadamente afectado en los primeros dos días de supresión de la irrigación diaria. Centralmex mostró valores intermedios entre los otros dos cultivares. Este comportamiento indica una capacidad diferencial de las variedades de maíz para soportar los efectos del desecamiento progresivo del suelo.

La actividad de la nitrato-reductasa (ANR) durante el período experimental se presenta en la Figura 1. El nivel de actividad varió significativamente dentro del grupo que sirvió de control, con una disminución pronunciada durante el primer día. Este comportamiento refleja una sensibilidad bastante acentuada

Cuadro 1. Variación de las condiciones ambientales durante el período de crecimiento y experimental.

Parámetro ambiental	Período experimental (días)					Media para el período de crecimiento (24 días)
	0	1	2	3	4	
Radiación media ( $\text{cal cm}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$ )	139.2	229.0	380.90	191.4	155.8	172.3
Temperatura media diurna ( $^{\circ}\text{C}$ )	26.1	29.6	31.3	28.8	27.5	27.4
Humedad relativa del aire (%)	77.4	67.3	64.7	75.9	78.1	72.7
Déficit medio de saturación (mm/hg)	5.7	10.2	12.1	7.2	5.9	7.5

Cuadro 2. Variación del C. H. R. de tres cultivares de maíz (*Zea mays L.*) sometidos a cuatro días de desecamiento del suelo o bajo irrigación continua.

Cultivar	C. H. R. (%)									
	Irrigados (días)					No irrigados (días)				
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
Centralmex	97.1	94.0	95.4	98.1	98.5	97.1	92.6	84.5	79.9	75.2
IPEACS III	98.0	92.1	91.3	99.3	97.3	98.0	89.0	78.7	74.1	71.7
Piranão	98.6	96.8	93.8	98.4	98.9	98.6	92.8	88.0	83.4	82.1

D M. S. (5%) para día entre cultivar = 3.1  
para cultivar entre días = 2.6

de la ANR al nivel de hidratación foliar. Tal sensibilidad también fue observada por Morilla *et al* (14). La disminución de la presión evapotranspirativa durante la tarde del segundo día y la mañana del tercero, determinó una recuperación en C. H. R. para los tres cultivares (Cuadros 1 y 2). En estas condiciones, Centralmex mostró una rápida recuperación de la ARN, no sucediendo lo mismo con los otros cultivares (Figura 1). Dentro del grupo no irrigado, la tendencia, como era de esperarse, fue de una reducción en ANR la cual, no obstante, afectó diferencialmente los tres cultivares. La ANR en IPEACSS III cayó bruscamente en el día 2, siendo menos acentuado su descenso posteriormente (Figura 1). Centralmex y Piranão mostraron, hasta el día 2, niveles semejantes de ANR, independientemente de la variación del C. H. R. entre estos cultivares (Cuadro 2 y Figura 1). Solamente después del tercer día, la ANR en Piranão fue significativamente superior a la de los otros cultivares. Al final del periodo, se observó una reducción de 62 por ciento en la ANR de Piranão, con relación a los controles normalmente irrigados. Centralmex tuvo una reducción de la ANR de 90 por ciento e IPEACS III de 80 por ciento.

Los tres cultivares respondieron a la deficiencia hídrica con un aumento significativo en el tenor de N-nítrico, pero el patrón de acumulación entre cultivares se expresó diferencialmente (Cuadro 3). IPEACS III aumentó su nivel de N-nítrico después de un día de supresión de la irrigación y mantuvo este nivel con ligeras fluctuaciones hasta el final del periodo experimental. Desde que, entre los días uno y cuatro este cultivar sufrió una disminución en C. H. R. del orden de 17 por ciento (Cuadro 2), la acumulación de nitrato se mostró, en este cultivar, como un parámetro relativamente insensible al aumento de la deficiencia hídrica foliar. En Centralmex el contenido de N-nítrico aumentó después de un día de supresión de la irrigación y mantuvo este nivel hasta el día tres para, finalmente, aumentar en

forma significativa en el final del periodo. Piranão presentó una tendencia menos estable, con un aumento significativo en los días uno y dos y una disminución en el día tres, para finalmente aumentar en el día cuatro (Cuadro 3). Una tendencia definida de aumento en el contenido de N-nítrico fue encontrada en experimentos anteriores (13). Estos aumentos pueden ser esperados si la actividad de la enzima responsable de la reducción (NR) es disminuida drásticamente, como en el caso presente (Figura 1). Con el desarrollo de la deficiencia hídrica la disponibilidad energética para absorción, transporte y acumulación de N-nítrico en los sitios de reducción también debe haber sido reducida. Las acumulaciones de N-nítrico observadas podrían reflejar, entonces, disponibilidades energéticas diferenciales entre los cultivares, o al-

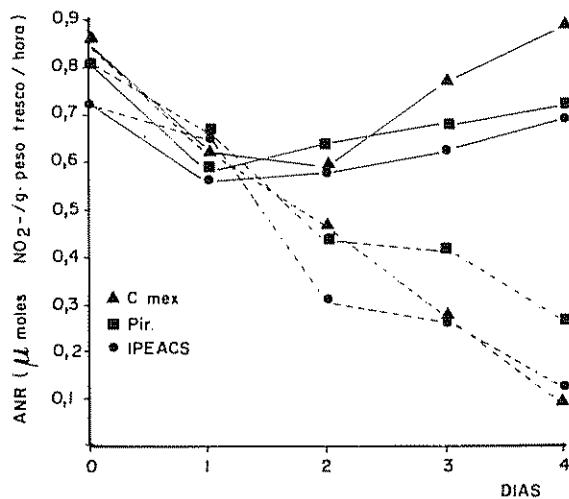


Fig. 1. Variación de la actividad de Nitrato-reductasa en tres cultivares de maíz (*Zea mays L.*) en función de los días de desecamiento del suelo. Línea entera: irrigados. Línea punteada: no irrigados.  
D.M.S. (5%): día entre cultivares = 0.09  
cultivar entre días = 0.10

Cuadro 3. Variación de los contenidos de N-nítrico, N-amoniacial y N-amino libre en función del desecamiento del suelo en tres cultivos de maíz (*Zea mays L.*).

Cultivar	Supresión de la irrigación (días)				
	0	1	2	3	4
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (μmoles/g peso seco)					
Centralmex	20.31	36.49	34.54	35.99	41.17
Piranão	23.13	28.08	41.53	35.48	45.46
IPEACS III	21.79	31.87	32.34	28.86	31.37
D.M.S. (5%) día entre cultivos =	7.60				
cultivar entre días =	4.02				
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (μmoles/g peso seco)					
Centralmex	27.32	29.08	37.15	64.08	87.82
Piranão	25.95	29.59	30.07	44.12	68.32
IPEACS III	27.70	34.42	37.76	62.87	96.81
D.M.S. (5%) día entre cultivos =	14.56				
cultivar entre días =	7.29				
N-amino libre (μmoles/g peso seco)					
Centralmex	57.77	87.58	144.38	218.83	342.35
Piranão	58.34	89.39	87.85	170.45	247.55
IPEACS III	70.21	103.12	152.12	242.61	304.49
D.M.S. (5%) día entre cultivos =	19.60				
cultivar entre días =	13.07				

1 Solamente son presentadas las medias de los tratamientos no irrigados.

ternativamente efectos de concentración por reducción de peso seco. Los niveles de acumulación de N-nítrico en las plantas sometidas a deficiencia hídrica fueron, al final del período, superiores a los controles irrigados, del orden de 58 por ciento para Centralmex, 25 por ciento para IPEACS III y 84 por ciento para Piranão. Las reducciones de materia seca total en las macetas no irrigadas, al final del período fueron del orden de 24 por ciento para Centralmex, 19 por ciento para Piranão y 32 por ciento para IPEACS III (en comparación con sus controles diarios). Estos resultados sugieren que en el caso de Piranão y probablemente Centralmex, el proceso de absorción y transporte de nitrato (la fuente de N usada en este experimento) fue menos afectado que su reducción foliar. Una translocación de sustancias energéticas hacia la raíz podría, parcialmente,

explicar estos resultados (Rossiello, Fernandes y Flores, en preparación).

La variación en el contenido de N-amoniacial en los tres cultivos, se presenta en el Cuadro 3. Centralmex e IPEACS III exhiben un aumento en el contenido de N-amoniacial después del día dos y Piranão después del día tres. Al final del período (día cuatro), Centralmex e IPEACS III mostraron, respectivamente, 28.5 por ciento y 41.4 por ciento más N-amoniacial que Piranão. Se podría esperar que una reducción en ANR (Figura 1) resultase también en una reducción del contenido de N-amoniacial. Sin embargo, si la deficiencia hídrica inhibe la biosíntesis de proteínas (8), o aumenta la actividad proteolítica (15), esto podría conducir a una acumulación de N-amoniacial.

Los resultados obtenidos en este experimento muestran un efecto definido del desecamiento progresivo sobre los contenidos de N-proteico foliar en los tres cultivares (Figura 2). Dentro del grupo de maceatas para control, hubo una disminución significativa en Centralmex IPEACS III en el día dos, con una tendencia de recuperación hacia el final del período. Piranão, aunque con un nivel inferior al del inicio del período (día cero), mantuvo este nivel relativamente constante. Estas fluctuaciones en el contenido de N-proteico dentro del grupo control confundieron las diferencias diarias con respecto al grupo no irrigado. No obstante, al final del período el contenido de N-proteico en Piranão fue reducido en 25 por ciento con respecto a su control diario, Centralmex en 48 por ciento IPEACS III en 57 por ciento.

La acumulación de N-amino libre mostró diferencias significativas dentro de cultivares después de un día de la supresión de la irrigación y entre cultivares, después de dos días (Cuadro 3). Centralmex mostró el mayor nivel de acumulación al final del período, Piranão el menor e IPEACS un nivel intermedio. La acumulación de amino-N libre fue un indicador sensible de deficiencia hidrica en los tres cultivares, si se consideran los C. H. R. observados en las plantas sometidas a desecamiento del suelo (Cuadro 2). Centralmex acumuló N-amino más rápidamente que los otros dos cultivares. Así, con una reducción aproximada del 12 por ciento en C. H. R. en el día 2 (Cuadro 2), el nivel de N-amino en este cultivar no difirió del observado en IPEACS III en el mismo día (Cuadro 3), cuando este último cultivar ya había experimentado una reducción del 20 por ciento en C. H. R. (Cuadro 2).

El contenido de prolina libre aumentó grandemente en los tres cultivares (Cuadro 4). En la Figura 3 están indicadas las tendencias de variación de proli-

na en función de los C. H. R. observados en los tres cultivares. El patrón de acumulación fue similar, notándose, sin embargo, diferencias en lo relativo a los contenidos acumulados (Cuadro 4) y al ritmo de acumulación en función de la deshidratación progresiva de la hoja (Figura 3). Se verifica una clara tendencia exponencial en las curvas de cada cultivar. Es evidente, en la Figura 3, la existencia de un nivel basal de C. H. R. para la acumulación de prolina, y esto confirma observaciones anteriores con otras especies (7, 12, 9). Para Centralmex y Piranão, el nivel necesario para el comienzo de la acumulación de prolina se sitúa en la faja de 85-90 por ciento de C. H. R. (Figura 3). IPEACS III parece comenzar su acumulación después de Centralmex (en términos de C. H. R. decreciente), dado que no fueron observadas

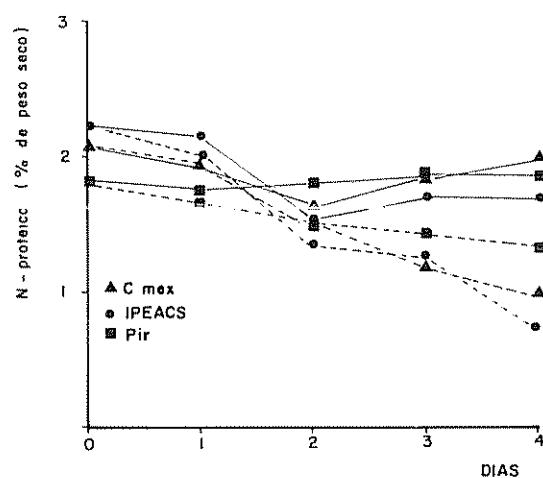


Fig. 2. Variación del contenido de N-proteico en tres cultivares de maíz (*Zea mays L.*) en función de los días de desecamiento del suelo. Línea entera: irrigados. Línea punteada: no irrigados.  
D.M.S. (5%): día entre cultivares = 0.10  
cultivar entre días = 0.06

Cuadro 4. Variación del contenido de prolina libre en tres cultivares de maíz (*Zea mays L.*) en función de los días de desecamiento del suelo.

Cultivar	Período de no irrigación (días)				
	0	1	2	3	4
Prolina ( $\mu$ moles/g peso seco)					
Centralmex	1.97	1.83	5.83	18.05	30.31
Piranão	1.56	2.66	3.99	24.26	48.40
IPEACS III	2.38	2.01	6.52	24.95	45.62

D.M.S. (5%) para día entre cultivares = 4.70  
para cultivar entre día = 2.69

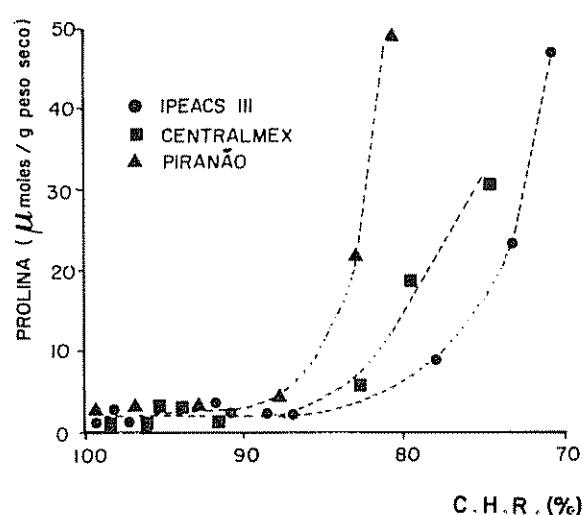


Fig. 3. Variación del contenido de prolina libre en tres cultivares de maíz (*Zea mays L.*) en función del contenido hídrico relativo (C.H.R.).

diferencias en los contenidos de prolina entre los cultivares en el día dos (Cuadro 4), cuando el C. H. R. de IPEACS III fue de 78.7 por ciento significativamente menor que el de los otros dos cultivares (Cuadro 2).

Estos resultados son un tanto complejos para la interpretación del significado de prolina como metabolito acumulable, respecto a resultados previamente comunicados, que relacionan resistencia a la sequía y contenido de prolina (19). El cultivar Piranão, que mantuvo un C. H. R. superior a los otros cultivares durante todo el período de desecamiento del suelo (Cuadro 2), puede ser considerado, por esta razón, más resistente a la sequía. Sin embargo, se puede observar que, independientemente de diferencias sensibles en C. H. R. (Cuadro 2), el nivel absoluto de acumulación de prolina no difirió entre Piranão e IPEACS III (Cuadro 4). Las diferencias entre esos cultivares surgen al comparar el nivel de C. H. R. en el cual el proceso de acumulación se torna evidente (Figura 3). Los aumentos en el tenor de prolina libre, en hojas sometidas a deficiencia hídrica, deberían ser examinados bajo un doble aspecto: a) tasa de biosíntesis *de novo* de prolina; b) tasa de incremento de prolina derivada de actividad proteolítica. La evidencia disponible indica que los niveles de acumulación de prolina están por encima de los aumentos esperados debidos a proteólisis (15). Un mismo nivel de acumulación de prolina, puede, sin embargo, reflejar una contribución diferencial de la proteólisis y de la síntesis *de novo* de prolina, para cada cultivar, tornando difícil la interpretación de asociaciones directas entre el nivel de acumulación y resistencia a la sequía. En el presente caso, el cul-

tivar Piranão mantuvo un contenido más elevado de N-proteico (Figura 2). Como consecuencia, presentó un menor nivel de acumulación de amino-N y de N-amoniacial, en comparación con los otros cultivares (Cuadro 3). Este bajo porcentaje de reducción en N-proteico podría estar ligado a una menor inhibición de biosíntesis proteica o a una menor actividad proteolítica bajo condiciones de tensión (stress) hídrica. Probablemente, una menor inhibición de biosíntesis proteica sea la causa del mantenimiento de la pequeña pero significativa ANR en este cultivar al final del período experimental (Figura 1). Es probable también, tomando en consideración que en zona de C. H. R. donde se verifica una acumulación significativa de prolina en este cultivar (Figura 3), una fracción importante del conjunto acumulado se haya originado efectivamente a partir de síntesis *de novo*. En ese caso, entonces, el nivel y ritmo de acumulación de prolina podrían ser tomados como indicadores de resistencia a la sequía, presumiblemente actuando como un agente osmótico. Ha sido postulado, para la prolina, un rol fisiológico como soluto osmorregulador, pero no existen evidencias concluyentes en plantas superiores (7, 9). En el otro extremo, IPEACS III, el cultivar que se mostró más afectado durante el ciclo de desecamiento del suelo (Cuadro 2), exhibió una caída drástica en el contenido de N-proteico (Figura 2). Es probable que en este caso, un aumento de la actividad proteolítica determinase un contenido elevado de N-amoniacial y amino-N libre en este cultivar (Cuadro 3). En cebada, Arad y Richmond (1) encontraron una correlación lineal directa entre el déficit de saturación de agua y el nivel de actividad de ribonucleasas y proteasas. Esto abre la posibilidad de que en IPEACS III, que comenzó a acumular prolina a un nivel de C. H. R. más bajo (Figura 3), una parte importante del contenido acumulado se origine a partir de la hidrólisis de prolina ligada a la proteína. Si tal fuese el caso, el proceso de acumulación funcionaría primariamente en IPEACS III como un indicador de su susceptibilidad a la sequía.

### Conclusiones

Los resultados de este experimento permitieron distinguir diferencias de época e intensidad de las respuestas metabólicas al desecamiento del suelo, en los tres cultivares de maíz.

El tenor de amino-N libre y la actividad de la nitrato-reductasa resultaron los indicadores de mayor sensibilidad a la tensión (stress) hídrica.

Los tres cultivares estudiados acumularon prolina, pero el inicio de este proceso (acumulación de prolí-

na) parece variar en función de los C. H. R. exhibidos por los cultivares durante el transcurso del período de desecamiento del suelo.

Otros parámetros, como el contenido de N-nitrico y de N-amoniacial, también se afectan por el desecamiento del suelo. Entre tanto, nuestros resultados sugieren que para un uso eficiente de estos parámetros en el estudio de la resistencia a la sequía, es necesario completar esta información. En particular, el estudio de la actividad de proteasas y su contribución en los contenidos totales de amino-N y prolinas acumulados, y del significado de esta acumulación de N-soluble en términos de osmorregulación celular, parecen puntos de mucha importancia en estudios futuros. Es probable que, sin esos estudios previos, las pruebas rápidas, basadas en determinaciones de los contenidos totales de metabolitos acumulados, no sean de gran utilidad en la caracterización de la resistencia a la sequía de los tres cultivares de maíz.

#### Literatura citada

1. ARAD, S. y RICHMOND, A. E. Leaf cell water and enzyme activity. *Plant Physiology*, 57: 656-658. 1976.
2. BARRS, H. D. y WEATHERLEY, P. E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15:413-428. 1962.
3. BATES, L. S.; WALDREN, R. P. y TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39:205-207. 1973.
4. BREMNER, J. M. y KEENEY, D. R. Steam distillation methods for determination of ammonium, nitrate and nitrite. *Analytical Chemistry Acta*, 32:485-495. 1965.
5. DENMEAD, O. T. y SHAW, R. H. The effects of soil moisture stress at different stages of growth on the development and yield of corn. *Agronomy Journal*, 52:272-274. 1960.
6. FERNANDES, M. S. Effects of light and temperature on the nitrogen metabolism of tropical rice. Ph.D. Thesis. Michigan State University. 1974.
7. HANSON, A. D.; NELSEN, C. A. y EVERSON, E. H. Evaluation of free proline accumulation as an index of drought resistance using two contrasting barley cultivars. *Crop Science*, 17:722-726. 1977.
8. HSIAO, T. C. Plant responses to water stress. *Annual Review. Plant Physiology*, 24:519-570. 1973.
9. HUANG, A. H. C. y CAVALIERI, A. J. Proline oxidase and water stress-induced proline accumulation in spinach leaves. *Plant Physiology*, 63:531-535. 1979.
10. JACCOUD, A. y CASTRO, A. F. de. Curvas de caracterização de umidade de solos da área da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, município de Itaguaí. *Pesquisas Agropecuarias Brasileiras*, 11:1-9. 1976.
11. JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochemical Biophysical Res. Comm.*, 43:1274-1279. 1971.
12. MADRUGA, L. A. N. y RENA, A. B. Variações na concentração de prolina livre em folhas intactas de cinco cultivares de arroz (*Oriza sativa* L.) submetidas a desidratação. *Ceres*, 24:226-236. 1977.
13. MATTIAS, R. E. y PAULI, A. W. Trends in nitrate reduction and nitrogen fractions in young corn (*Zea mays* L.) plants during heat and moisture stress. *Crop Science*, 5:181-184. 1965.
14. MORILLA, C.; BOYER, J. S. y HAGEMAN, R. H. Nitrate reductase activity and polyribosomal content of corn (*Zea mays* L.) having low leaf water potentials. *Plant Physiology*, 51:817-824. 1973.
15. NAYLOR, A. W. Water deficits and nitrogen metabolism. In: Kozlowski, T. T., ed. *Water deficits and plant growth*, vol. III. New York and London. Academic Press. 1972. pp. 241-254.
16. RAMOS, D. P.; CASTRO, A. F. de y CAMARGO, M. N. Levantamento detalhado de solos da área da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. *Pesquisas Agropecuárias Brasileiras*, 8:1-27. 1973.
17. RAO, P. K. y RAINS, W. D. Nitrate absorption by barley. I. Kinetics and energetics. *Plant Physiology*, 57:55-58. 1976.

- 
- 18. ROBINS, J. S. y DOMINGO, C. E. Some effects of severe soil moisture deficits at specific stages in corn. *Agronomy Journal* 45:612-621. 1953.
  - 19. SINGH, T. N.; PALEG, L. G. y ASPINALL, D. Stress metabolism III. Variations in response to water deficit in the barley plant. *Australian Journal of Biological Sciences*, 26:65-76. 1973.
  - 20. YEM, E. W. y COCKING, E. C. The determination of aminoacids with ninhydrin. *Analyst* 80:209-213. 1955.

## PUBLICACIONES

**Agronea.** El centro de Información Bioagropecuaria y Forestal de la Universidad Nacional del Nordeste, (Cibagro) de Argentina, ha iniciado en 1981, la publicación de una serie titulada *Agronea*. Su objetivo es suministrar información y documentación a las tareas de extensión e investigación en las provincias de Chaco, Corrientes y Formosa, así como la difusión de trabajos "no convencionales" y la provisión de datos de mercadeo agropecuario. Los dos primeros números de esta serie contienen sendos trabajos de investigación, ambos del mismo autor Guido A. Vallejos, el primero sobre asociación de gramíneas y leguminosas tropicales, y el segundo sobre comportamiento de forrajeras en el nordeste argentino. La dirección es CIBAGRO, Universidad Nacional del Nor-

deste, Av. Las Heras 727, Resistencia, Chaco, Argentina.

### Training course introduction to ergonomics

"The joint (CIGR/IAAMRH/IUFRO) working group 'Promotion of Ergonomics in the Tropics' is organizing a TRAINING COURSE 'INTRODUCTION TO ERGONOMICS' specially held for staff members from tropical countries (researchers, teachers and extension officers) in agriculture or forestry who wanted to incorporate ergonomics (Am.: human engineering) into their regular job. The training course will be held from October 18 - November 12, 1982, in Wageningen, The Netherlands.

For information please write to:

Secretary Joint Working Group PET: Frits J. Staudt, Bosbouwtechniek, L. H.; P. O. B. 342; NL-6 700 AH Wageningen; The Netherlands."

AVANCES DE LA INVESTIGACION REALIZADA EN EL PERU  
SOBRE LOS EFECTOS DE LA SALINIDAD EN LA PRODUCCION  
DE LA CAÑA DE AZUCAR<sup>1</sup> /

SERGIO VALDIVIA V.\*

Abstract

*In the present work principal results obtained in 5 years of field research with sugarcane cultivated on saline and saline-sodic soils are reported.*

*All the experiments were carried out with cultivar H32-8560 under field conditions (clime extremely arid) and on alluvial soils of the Peruvian northern coast.*

*The results indicate that, in order to obtain a good sprouting of sugarcane (better than 85 percent), salinity must be less than 5 mmhos/cm. Furthermore, that on saline fields with a deep water-table (more than 2 m), sugarcane behaves as a salt sensible crop (15% reduction in yield with salinity of 2 mmhos/cm); on the contrary, in saline fields with a shallow water-table (0.80 to 1.10 m) sugarcane behaves as a salt semi-tolerant crop (1.5 percent reduction in yield with salinity of 8 mmhos/cm).*

*It was also found that in slightly saline soils (from 2 to 8 mmhos/cm) high rates of nitrogenous fertilizers, more than 180 kg N/ha, did not increase cane nor recoverable sugar yield; however, the lowest rate of N used (180 kg/ha) produced higher yields than the control plot (no N).*

*Likewise, it was found that with 15 percent of exchangeable sodium (ESP) cane or sugar yield decreased in 15 percent and that yield was reduced by one half when the ESP varied between 25 to 26.*

Introducción

**A**ntes de la creación del Instituto Central de Investigaciones Azucareras (ICIA) en el Perú se había dado relativamente poca importancia al estudio del efecto de la salinidad del suelo en el cultivo de la caña de azúcar, debido a que la Hacienda Casa Grande que contaba con su Estación Experimental, igual que otras Haciendas Azucareras que realizaban experimentación agrícola, tenían una su-

perficie reducida con problemas de salinidad. Hasta esta época, únicamente se disponía de un método gráfico para determinar el potencial osmótico de los suelos salinos de la costa norte del Perú a partir de la conductividad eléctrica del extracto de saturación y del contenido de humedad del suelo (6). Además, se había desarrollado una relación (para suelos del valle Chicama) que permitía calcular la conductividad eléctrica del extracto de saturación (CEe) a partir de la conductividad eléctrica de la pasta saturada y del porcentaje de saturación (13).

Con la creación del ICIA (Octubre de 1970), la experimentación en el cultivo de la caña de azúcar se centralizó, comenzando dicho Instituto a realizar trabajos de investigación en todas las Cooperativas Azucareras del Perú.

1 Recibido para publicación el 7 de enero de 1981.

\* Jefe de la Sección Química de Suelos del Instituto Central de Investigaciones Azucareras (ICIA), Apartado 1071, Trujillo, Perú.

Al comienzo, se detectaron algunas zonas salinas y se propuso la necesidad de investigar los diversos problemas de suelos salinos y sódicos, además de determinar límites críticos para el desarrollo de los cultivares de caña bajo las condiciones del suelo y clima del Perú (14). Además, se encontró que bajo condiciones de extrema aridez (costa peruana) la evaluación morfológica de los suelos salinos y sódicos da lugar a múltiples equivocaciones y que la evaluación química de suelos salino-sódicos y sódicos es errónea en cuanto a la estimación del porcentaje de sodio intercambiable, el cual es sobreestimado (7). En consecuencia, se propuso como una condición necesaria la presencia de los aniones solubles  $\text{CO}_3^{2-}$  y  $\text{HCO}_3^-$ , para que tales suelos de esa zona árida fueran considerados sódicos o salino-sódicos. Paralelamente, se había observado que la evaluación de la producción de caña en suelos salinos es difícil cuando intervienen otros factores, principalmente el sodio, concluyéndose que el límite de afectación por sales para la caña es bastante estrecho y que la extracción del agua por las raíces de la caña que se desarrolla en suelos salinos, se realiza principalmente de la capa menos salina (8).

Un trabajo de investigación más detallado fue realizado por Valdivia y Pinna (17), quienes al integrar la curva del potencial total del suelo y el porcentaje de espacio aéreo, encontraron un límite teórico de afectación por sales para la caña de azúcar de 3.5 y 2.2 mmhos/cm de conductividad eléctrica del extracto de saturación para las profundidades de 0-30 cm y 30-60 cm respectivamente.

Por último, se debe recalcar que los altos precios del azúcar en el mercado internacional durante los años 1974-1975, causaron una fuerte tendencia para la expansión de la superficie de cultivo de la caña a zonas vírgenes, generalmente salinas, o a campos anteriormente cultivados con plantas tolerantes a la salinidad como arroz, algodón, sorgo o gramalote. Esta mayor importancia que adquieren los suelos salinos, principalmente en los valles del Tambo, Nepeña, Chicama, Zaña y Chancay-Lambayeque, dio origen en 1974 a la proposición de un proyecto de investigación para el mayor conocimiento del efecto de las sales y el sodio en la caña bajo las condiciones de la costa árida peruana, de modo que se pudiera dilucidar la política a seguir para la expansión de dicho cultivo.

Los principales objetivos de la investigación propuesta fueron: a) Conocer el efecto de las sales en el brotamiento de la caña; b) Encontrar los límites críticos de afectación por sales y sodio y los porcentajes de reducción del rendimiento, con el fin de poder determinar la factibilidad económica del

cultivo de la caña en nuevas áreas de expansión; c) Estudiar el efecto del abonamiento nitrogenado en campos ligeramente salinos; d) Conocer el efecto de la interacción salinidad del suelo-profundidad del nivel freático en la producción de la caña de azúcar.

### Materiales y métodos

Los experimentos cuyos resultados se presentan a continuación, han sido realizados en el cultivar de caña H32-8560 y en los valles Chancay-Lambayeque (Tumán), valle de Zaña (Cayalti) y valle Chicama (Cartavio), ubicados en la costa norte del Perú.

Esta zona tiene un clima extremadamente árido con temperatura promedio de 20.6 a 22.2°C, precipitación anual de 20 a 34 mm y evaporación anual promedio de 4.5 a 5.8 mm. Los suelos se caracterizan por ser de formación aluvial, son suelos jóvenes de textura media a moderadamente fina, calcáreos, con una capacidad total de intercambio catiónico de 20 meq/100 g, pobres en N, medios a ricos en P y bien provistos de K.

Para la delimitación de las parcelas, se trató de agrupar áreas uniformes con las siguientes características: a) Zonas donde la caña no brotó; b) Zonas con caña muy chica o escaso brotamiento; c) Zonas con caña chica; d) Zonas con crecimiento regular; e) Zonas con buen crecimiento; y f) Zonas con crecimiento muy bueno. Este sistema también fue usado en Sud-Africa por la South African Sugar Association (11). Para asegurar la representatividad de la salinidad del suelo de cada parcela estudiada, se tomó de 8 a 10 puntos (cada uno a 3 profundidades 0-30, 30-60 y 60-90 cm) por parcela. Todas las muestras de igual profundidad fueron unidas para formar una muestra compuesta representativa de la parcela, la cual fue analizada en el laboratorio. Para el análisis de correlación y regresión en todos los casos se usó la conductividad eléctrica promedio de las capas 0-30 y 30-60 cm.

### Resultados y discusión

#### Efecto de la salinidad en el brotamiento de la caña de azúcar

En la Figura 1 puede apreciarse que el brotamiento relativo de la caña de azúcar está inversamente correlacionado con la salinidad de la capa promedio 0-60 cm que fue la que mejor se relacionó.

El coeficiente de correlación fue altamente significativo ( $R = 0.80$ ).

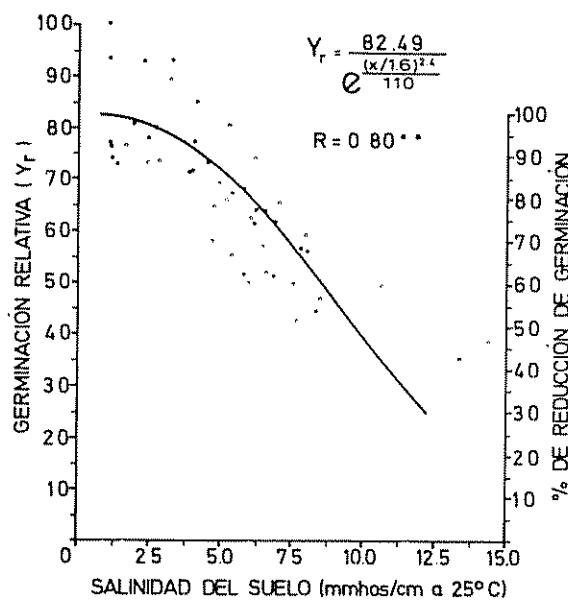


Fig. 1. Relación entre el número relativo de brotes con la conductividad eléctrica del extracto de saturación, bajo condiciones de campo.

Como puede observarse, el brotamiento disminuyó 10 y 15 por ciento cuando la conductividad eléctrica del extracto de saturación fue de 4.5 y 5.2 mmhos/cm respectivamente. Una fuerte reducción de la germinación (50%) se observó cuando la salinidad del suelo fue de 9.7 mmhos/cm (18). Este valor está próximo al descrito por Bernstein *et al.* (1), quienes encontraron aproximadamente un 50 por ciento de reducción del brotamiento en una C.E.<sub>e</sub> de 8.6 mmhos/cm.

Se pudo observar que mucha caña que brotó en suelos con alta salinidad se quedó pequeña y no desarrolló normalmente.

#### Efecto de la salinidad en la producción de la caña de azúcar

##### a. Relación entre producción y salinidad

En la Figura 2 se observa resultados de 4 experimentos en los cuales se relaciona el rendimiento relativo en porcentaje, con la salinidad del suelo ( $\bar{x}$  0-60 cm) en mmhos/cm (16).

Las ecuaciones de regresión encontradas fueron:

Campo Santa Rosa (caña planta):

$$Y = 93.4231 - 13.6738X + 0.5225X^2 \quad [1]$$

$$R = 0.71^{**}$$

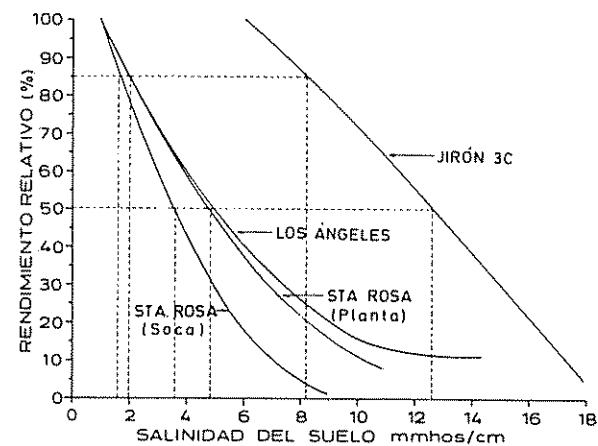


Fig. 2. Efecto de la salinidad del suelo en el rendimiento relativo de la caña de azúcar.

Campo Santa Rosa (caña soca):

$$Y = 108.4431 - 21.8313X + 1.0665X^2 \quad [2]$$

$$R = 0.83^{**}$$

Campo Los Angeles

$$Y = 101.4719 - 14.2489X + 0.5462X^2 \quad [3]$$

$$R = 0.93^{**}$$

Campo Jirón 3C:

$$Y = 97.9471 - 3.7760X - 0.08699X^2 \quad [4]$$

$$R = 0.79^{**}$$

Como se puede apreciar, en todos los casos el coeficiente de correlación es altamente significativo.

Bernstein, citado por Reeve y Fireman (9) expresa la tolerancia de sales en términos de 15 por ciento de reducción del rendimiento; por lo tanto, en el presente trabajo se discuten los resultados considerando este valor como nivel crítico permisible.

##### b. Niveles críticos de salinidad

Puede observarse en la Figura 2 que la caña soca del campo Santa Rosa es la más afectada por la salinidad, siendo su nivel crítico 1.6 mmhos/cm. Para el caso de la caña planta de los campos Santa Rosa y Los Angeles el nivel crítico concuerda en 2.0 mmhos/cm, lo cual indica que la caña de azúcar es un cultivo sensible a las sales, coincidiendo con lo descrito por FAO/UNESCO (3). Sin embargo, el comportamiento del campo Jirón 3C es completamente diferente siendo su nivel crítico 8.2 mmhos/cm.

### c. Diferencias de rendimiento entre caña planta y caña soca

Este comportamiento únicamente puede observarse en el campo Santa Rosa, el cual dispone de caña planta y soca. Los niveles críticos son de 2.0 mmhos/cm para la planta y 1.6 mmhos/cm para la soca. Puede apreciarse que a bajo nivel de salinidad la planta y la soca rinden prácticamente lo mismo, en cambio a altos niveles de salinidad la caña soca fue mucho más afectada que la caña planta. La menor tolerancia a las sales por la caña soca, ha sido descrita por otros investigadores (1, 10).

### d. Efecto de la salinidad en función de la profundidad del nivel freático

En la Figura 2 se puede observar que los campos Los Angeles y Jirón 3C tienen niveles críticos de afectación por sales completamente diferentes, a pesar de que ambos suelos tienen características químicas muy similares. Sin embargo, se diferencian en que en los Angeles el nivel freático, por lo general, se mantuvo por debajo de 2 m, obteniéndose un nivel crítico de afectación por sales de 2 mmhos/cm; en cambio en Jirón 3C la napa freática fluctuó entre 0.8 y 1.1 m. Esta napa freática superficial, permitió el normal crecimiento de la caña, aún a salinidades tan altas como 8.2 mmhos/cm. Esta respuesta diferente de la caña de azúcar a la salinidad del suelo se explica fácilmente si se tiene en cuenta que el agua de riego es un recurso escaso en los valles bajo estudio, por lo cual la caña se riega cada 25 a 40 días, de allí que en Los Angeles, a los efectos dañinos de las sales (potencial osmótico), se suma las condiciones de sequedad del suelo (potencial matriz alto). Todo lo contrario ocurre en Jirón 3C donde a pesar de la salinidad alta, el potencial matriz del suelo permanece bajo debido a las buenas condiciones de humedad provenientes de la napa freática superficial. Con respecto a esto, Hunsigi y Srivastava (5) indican que una napa freática a una profundidad de alrededor de 1 m contribuye con 65 por ciento de la evapotranspiración total de la caña de azúcar y no tiene efecto perjudicial en el crecimiento, rendimiento y calidad de la misma. Kamerling, citado por van Dillewijn (21) comprobó que las raíces de la caña continúan respirando intensamente aún cuando la atmósfera del suelo que las rodea contenga poco oxígeno; entonces, para evaluar el efecto de las sales, es muy conveniente integrar a la concentración salina la profundidad de la napa freática. Por lo tanto, es importante conocer la profundidad del nivel freático de una nueva zona por cultivar con caña de azúcar para saber si el futuro cultivo por ser sembrado en dicha área va a tener problemas con el abastecimiento de  $O_2$  (napas muy superficiales), va estar bien abastecida de humedad (na-

pas intermedias), o si va a sufrir por deficiencia de agua (napas muy profundas). Como puede observarse, un buen manejo del agua y del suelo es necesario para poder solucionar fácilmente cualquier efecto perjudicial de las sales.

### e. Efecto perjudicial del sodio

En el campo Santa Rosa, al efecto perjudicial de las sales se sumó el efecto dañino del sodio intercambiable, el cual varió entre 2 y 45 por ciento. Este doble efecto dañino hizo que el nivel crítico de afectación por sales sea relativamente bajo, lo cual está de acuerdo con lo encontrado por Bonnet (2) quien menciona que la caña de azúcar tiene un pobre crecimiento en tierras salinas (CE 1:2 suspensión suelo-agua = 1.5 a 3.7 mmhos/cm) que contienen de 20 a 73 por ciento de sodio intercambiable (pH 8.3 a 9.2), y que fue observado buen crecimiento cuando el sodio intercambiable fue entre 4.5 y 11.4 por ciento y la CE de 0.3 a 0.6 mmhos/cm. Igualmente, Fogliata y Aso (4) en suelos salino-sódicos de Tucumán recomiendan que los valores de CE estén por debajo de 1 mmho/cm y el PSI por debajo de 12 para que pueda esperarse una producción de caña de azúcar aceptable.

### Efecto de la salinidad en la respuesta al abonamiento nitrogenado

En las Figuras 3A y 3B se puede observar (para las 5 edades de cosecha estudiadas) que tanto el rendimiento de caña como el rendimiento de azúcar recuperable, no muestran diferencias significativas en función de las dosis crecientes de N (de 180 hasta 460 kg/ha). Este comportamiento se debió a que los suelos fueron ligeramente salinos, variables entre 2 y 8 mmhos/cm (19). Este hecho es contrario a los resultados encontrados en suelos no salinos donde ha quedado ampliamente demostrado que la caña de azúcar responde a aplicaciones mayores de 300 kg N/ha (20).

A pesar de que bajo condiciones de salinidad del suelo, no se ha encontrado respuesta de la caña a las altas dosis de N, puede observarse que el tratamiento que no se abonó con N dio un rendimiento apreciablemente inferior al tratamiento con la menor dosis de N (180 kg/ha); con excepción de las observaciones a la edad de cosecha de 23.3 meses, lo cual se debió a que la única parcela testigo estuvo ubicada en una región con baja salinidad relativa.

Finalmente, se realizó un análisis de correlación entre el rendimiento de caña y de azúcar, y la salini-

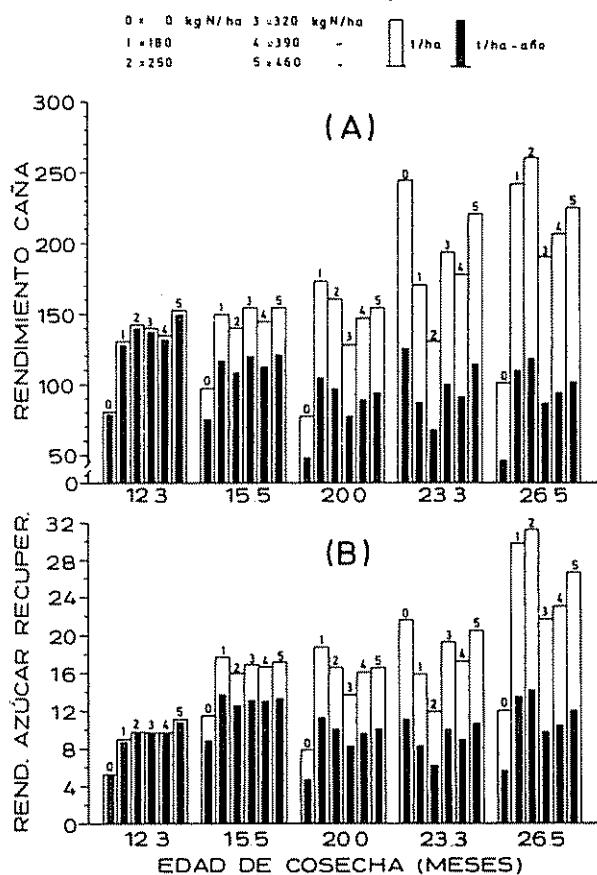


Fig. 3. Rendimiento de caña (A) y rendimiento de azúcar recuperable (B) en función de la edad de cosecha y de las dosis de nitrógeno en un suelo salino.

dad de la capa promedio 0-60 cm, y para las 5 edades estudiadas. En el Cuadro 1 se observa que a las edades de 15.5, 20.0, 23.3 y 26.5 meses, hubo correlación inversa altamente significativa entre estas características. Esto nos confirmaría el importante rol que tuvo la salinidad en la producción de caña y de azúcar, lo cual demuestra, además, que la falta de respuesta a dosis crecientes de N, se debe a la influencia negativa de la salinidad.

En la Figura 4 se presenta, para cada edad, la salinidad promedio (para cada tratamiento nitrogenado) mínima y máxima con su respectivo rendimiento promedio. Como se puede observar (con excepción de la edad de 15.5 meses) hay una relación inversa entre la salinidad y la producción de azúcar recuperable, la que es más apreciable a mayor edad de cosecha.

#### Efecto del porcentaje de sodio intercambiable (PSI) en la producción de la caña de azúcar

En la Figura 5 se observa la correlación inversa altamente significativa ( $R = 0.86^{**}$ ) entre el rendi-

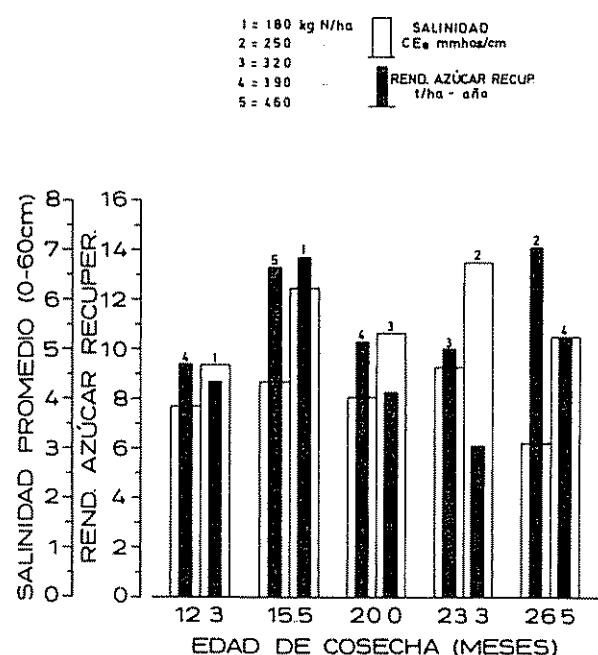


Fig. 4. Salinidad promedio más alta y más baja (de cada tratamiento nitrogenado) con su rendimiento promedio de azúcar recuperable, para cada edad de cosecha.

miento de azúcar recuperable y el PSI. También se presentan los resultados expresados en porcentaje del rendimiento relativo porque éste proporciona una mejor base de comparación. Puede observarse que con 45 por ciento de Na intercambiable, prácticamente no hay producción. La disminución del rendimiento de azúcar con 10 por ciento de sodio intercambiable es mínima; esto nos indica que de 0 a 10 por ciento de sodio intercambiable, prácticamente no hay efecto perjudicial. Sin embargo, cuando el PSI es 15 hay una reducción del rendimiento de 15 por ciento y con un PSI de 25 la producción se reduce en 50 por ciento. Podemos considerar que 15 por ciento de Na intercambiable es el nivel crítico por

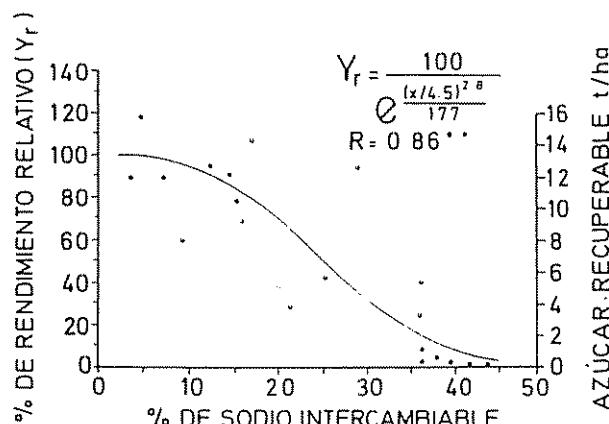


Fig. 5. Efecto del sodio en el rendimiento de azúcar recuperable, en parcelas de campo.

Cuadro 1. Coeficiente de correlación lineal entre el rendimiento de caña de azúcar y la salinidad de la capa promedio 0-60 cm.

	Edad en meses				
	12.3	15.5	20.0	23.3	26.5
Caña (t/ha)	-0.31	-0.81**	-0.75**	-0.83**	-0.64**
Azúcar Recup. (t/ha)	-0.29	-0.69**	-0.81**	-0.84**	-0.67**

encima del cual la producción es fuertemente restringida (15). El nivel crítico anterior, confirma el valor encontrado por US Salinity Laboratory (12).

### Conclusiones

En condiciones de cultivo de la caña de azúcar bajo irrigación, en zonas extremadamente áridas del Perú y para el cultivar H32-8560, se llegó a las siguientes conclusiones:

- Para obtener un buen brotamiento ( $> 85\%$ ), la  $CE_e$  no debe ser mayor de 5 mmhos/cm. Este valor puede ser considerado como el nivel crítico.
- Se encontró un 50 por ciento de disminución del brotamiento cuando la salinidad fue de 9.7 mmhos/cm.
- En campos salinos con napa freática superficial (0.8 – 1.1 m de profundidad) la caña se comportó como un cultivo semitolerante a las sales, siendo su nivel crítico, una salinidad de 8.2 mmhos/cm.
- En campos salinos con napa freática profunda (mayor de 2 m) la caña se comportó como un cultivo sensible a las sales, siendo su nivel crítico, una salinidad de 2.0 mmhos/cm.
- En suelos salinos, el efecto perjudicial de las sales está en función de la profundidad del nivel freático.
- En un campo salino-sódico, se encontró que a salinidad alta, la caña soca fue más afectada que la caña planta.
- En suelos salino-sódicos, además del efecto perjudicial de las sales, se suma el efecto perjudicial del sodio intercambiable, por lo cual el nivel crítico de afectación por sales es bajo (1.6 – 2.0 mmhos/cm) a pesar de la presencia de una napa relativamente superficial.

– En suelos con salinidad entre 2 y 8 mmhos/cm se debe abonar la caña con un máximo de 180 kg N/ha, teniendo en cuenta que conforme la concentración de sales aumenta, las necesidades de nitrógeno disminuyen.

- Los rendimientos de caña y de azúcar estuvieron inversamente correlacionados con la salinidad del suelo. Esta influencia negativa hizo que no se encontrara respuesta de la caña de azúcar a la fertilización con altas dosis de nitrógeno en ninguna de las 5 edades de cosecha.
- Por debajo del 10 por ciento de sodio intercambiable, prácticamente no hubo efecto perjudicial en la producción de azúcar recuperable.
- Una concentración de sodio intercambiable de 15 y 25 por ciento, reduce el rendimiento de azúcar recuperable en 15 y 20 por ciento respectivamente.
- Prácticamente no hubo producción con un 45 por ciento de sodio intercambiable.

### Resumen

En el presente artículo se dan a conocer los principales resultados obtenidos en 5 años de experimentación en el cultivo de la caña de azúcar bajo condiciones de suelos salinos y salino-sódicos.

Todos los estudios han sido realizados con el Cultivar H32-8560 bajo condiciones de clima extremadamente árido y en suelos aluviales (jóvenes) de la costa norte del Perú.

Los resultados presentados nos indican que para obtener un buen brotamiento de la caña, la conductividad eléctrica del extracto saturado no debe ser mayor de 5 mmhos/cm. Además, que en campos salinos con napa freática profunda (mayor de 2 m), la caña se comporta como un cultivo sensible a las sales (15 por ciento de reducción del rendimiento con una salinidad 2 mmhos/cm); en cambio, cuando el

nivel freático está superficial (0.80 a 1.10 m) la caña se comporta como semitolerante a las sales (15 por ciento de reducción del rendimiento con una salinidad de 8 mmhos/cm).

También se encontró que en suelos ligeramente afectados por sales (entre 2 y 8 mmhos/cm), las altas dosis de fertilizantes nitrogenados, mayores de 180 kg N/ha, no aumentan la producción de caña o de azúcar recuperable; sin embargo, sí hubo notable respuesta a la aplicación de 180 kg N/ha en comparación con la no aplicación de N.

Por último, se encontró que un 15 por ciento de sodio intercambiable (PSI) disminuye la producción de caña o de azúcar en un 15 por ciento y que la producción se reduce a la mitad cuando el PSI es de 25 a 26.

#### Literatura citada

1. BERNSTEIN, L., FRANCOIS, L. E. y CLARK, R. A. Salt tolerance of NCo. varieties of sugar cane. I. Sprouting, growth and yield. *Agronomy Journal*, 58(5):489-493. 1966.
2. BONNET, J. A. Soil salinity studies as related to sugarcane growing in Southwestern Puerto Rico. *Journal Agronomy University of Puerto Rico*, 37(2):103-113. 1953.
3. FAO/UNESCO. *Irrigation, Drainage and Salinity*. Hutchinson & Co. Ltd. London, 1973. 150 p.
4. FOGLIATA, F. A. y ASO, P. J. Efecto de la salinidad y sodio intercambiable del suelo en el rendimiento de la caña de azúcar. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán*, Argentina, 43(1):25-45. 1965.
5. HUNSIGI, C. y SRIVASTAVA, S. C. Modulation of Et values of sugarcane because of high water table. *Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists*, 16:1 557-1 564. 1977.
6. HUSZ, G. Serienmässige charakterisierung des wasserhaushaltes von bewässerungsböden in ariden und semiariden gebieten. *Trans. 9th Congress International Soil Science Society*, Adelaide, Australia. 565-576. 1968 (Traducción del autor en castellano).
7. PINNA C., J. Evaluación morfológica y química de suelos salino-sódicos en zonas áridas. Boletín Técnico. Instituto Central de Investigaciones Azucareras, 2(4):1-3. 1973.
8. PINNA C., J. Dificultades en la evaluación de suelos salinos y/o sódicos en el cultivo de la caña de azúcar. *Azúcar Peruana*, 2(3):14-23. 1974.
9. REEVE, R. y FIREMAN, M. Salt problems in relation to irrigation. *Irrigation of Agricultural Lands*. American Society of Agronomy. 11:988-1 008. 1967.
10. ROBINSON, F. E. y WORKER, C. P. Growth of sugarcane in areas irrigated with Colorado River Water. *California Agriculture*, 18(8): 2-3. 1965.
11. SOUTH AFRICAN SUGAR ASSOCIATION. Annual Report. 86 p. 1965-6.
12. U. S. SANITY LABORATORY. Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils. U. S. Department of Agriculture. Handbook 60. 1954. 160 p.
13. VALDIVIA V., S. Relación entre la conductividad eléctrica de una pasta de suelo, la conductividad eléctrica de su extracto y el "porcentaje de saturación". *Informes Estación de Investigaciones Agrícolas, Casa Grande, Trujillo, Perú* No. 8:1-13. 1970.
14. VALDIVIA V., S. Consideraciones generales acerca de la salinización y sodificación de suelos. *Boletín Técnico. Instituto Central de Investigaciones Azucareras*, 2(1):63-72. 1973.
15. VALDIVIA V., S. Effect of excess sodium on sugarcane yield. *Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists*, 16:861-866. 1977.
16. VALDIVIA V., S. Effect of water table depth on sugarcane salts concentration critical level. Trabajo presentado al 17 Congreso de la International Society of Sugar Cane Technologists, realizado en Filipinas. 1980. Por publicarse.
17. VALDIVIA V., S. y PINNA C., J. A theoretical salt effect limit for sugarcane considering soil physical properties. *Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists*, 15:736-742. 1974.

18. VALDIVIA V., S. y PINNA C., J. Efecto de la salinidad en el brotamiento de la caña de azúcar. *Saccharum*, 5(1):51-59 1977.
19. VALDIVIA V., S. y PINNA C., J. Salinity effect in sugarcane response to nitrogen fertilization. Trabajo presentado al 17 Congreso de la International Society of Sugar Cane Technologists, realizado en Filipinas. 1980 Por publicarse.
20. VALDIVIA V., S. TELLO A., H. y PINNA C. J. Efecto de la aplicación tardía del nitrógeno en el cultivar de caña H32-8560: II. Influencia de las dosis crecientes, en el rendimiento, calidad y nutrientes, así como en su variación con la edad. *Saccharum*, 6(2):146-177 1978.
21. VAN DILLEWIJN, C. *Botany of Sugarcane*. Waltham, Massachusetts. USA. 1952. 371 p.

AMINO ACIDS IN THE CALLUS GROWTH AND ROOT MORPHOGENESIS OF BEAN  
*(Phaseolus vulgaris)* LEAVES CULTURED *in vitro*<sup>1</sup> /

GENI S. TONIN\*, MARIA T. V. DE CARVALHO\*\*, WILLIAM R. SHARP\*\*\*, OTTO J. CROCOMO\*\*\*\*

Resumo

Sementes de feijão, (*Phaseolus vulgaris L.*) cv Carioca, foram germinadas em areia lavada e mantidas, posteriormente, em solução nutritiva nº 2 de Hoagland e Arnon. Do primeiro par de folhas das plantas de feijoeiro foram retirados, assépticamente, explantes de aproximadamente 4 x 4 mm e inoculados em meio de cultura. O meio de cultura básico utilizado foi meio sólido contendo sais minerais, vitaminas e sacarose como fonte energética. Como fatores de crescimento foram fornecidos ao meio cinetina e IAA ou cinetina, IAA, NAA e 2,4-D. O pH dos meios foi acertado para 5.6 após a adição de todos os nutrientes. Aminoácidos isolados ou em grupos foram adicionados ao meio básico para observar a eficiência destas substâncias em promover crescimento de calos e morfogênese de raízes em feijão. Dois meios de cultura considerados como referência foram mantidos. Um deles contendo caseína hidrolizada como fonte de nitrogênio reduzido (meio E); e o outro meio (meio G) contendo apenas o meio básico sem aminoácidos e sem caseína hidrolizada.

Durante o desenvolvimento das culturas foram feitas avaliações periódicas do crescimento de calos e desenvolvimento de morfogênese. No final de cada ensaio o peso fresco e o peso seco foram medidos. Com base nos dados obtidos foi calculado o IM (Índice de Morfogênese), IC (Índice de Crescimento) e os resultados foram submetidos a tratamento estatístico. Pela análise dos resultados observou-se que o meio de cultura que determinou melhor morfogênese foi o meio A contendo o meio básico acrescido de cinetina (1 mg/l), IAA (5 mg/l) e um grupo de três aminoácidos, arginina (60 mg/l), ácido aspártico (50 mg/l) e cisteína (10 mg/l). O meio B constituído de meio básico, acrescido de cinetina (1 mg/l), IAA (5 mg/l) e um grupo de três aminoácidos, ácido glutâmico, (65 mg/l), glicina (25 mg/l) e histidina (10 mg/l) ocasionou uma drástica inibição tanto no crescimento como na morfogênese. Dentro os aminoácidos deste último, o ácido glutâmico revelou-se como sendo a substância que ocasionou uma repressão do crescimento.

Quando foram testadas dezesseis concentrações de ácido glutâmico, mantendo glicina e histidina constantes, os resultados permitiram concluir que não foi a presença de ácido glutâmico, no meio B, a causa da repressão, mas a concentração usada (65 mg/l). Assim, pode-se observar que concentrações baixas de ácido glutâmico proporcionam um bom crescimento em culturas de tecido de folhas de feijoeiro e que em concentrações elevadas o crescimento decai. O melhor crescimento de calos foi obtido no meio B<sub>4</sub> em que o meio básico foi acrescido de quatro hormônios, cinetina (0.2 mg/l), IAA (2 mg/l), NAA (1 mg/l), e 2,4-D (1 mg/l) e um grupo de três aminoácidos, ácido glutâmico (0.5 mg/l), glicina (25 mg/l) e histidina (10 mg/l).

1 Received for Publication September 12, 1980.

Supported by grants from Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), Rio de Janeiro, Brazil.

\* Department of Physiological Sciences, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil.

\*\* Plant Biochemistry Sector, Center for Nuclear Energy in Agriculture (CENA), Piracicaba, SP, Brazil.

\*\*\* Pioneer Research, Campbell Institute for Agricultural Research, Cinnaminson, New Jersey 08077 U.S.A.

\*\*\*\* Dept. of Chemistry and Plant Biochemistry Sector, E.S.A. "Luiz de Queiroz," Center for Nuclear Energy in Agriculture (CENA), Piracicaba, SP, Brazil.

### Introduction

**I**t is well known that reduced nitrogen stimulates growth and morphogenesis when added to the nutrient medium as a mixture of amino acids, such as hydrolyzed casein or yeast extract (18). Gamborg *et al.* (9) have presented evidence that hydrolyzed casein and coconut milk can substitute for amino acids in suspension cultures of soybean root cells and that the hydrolyzed casein can be replaced by the mixture of the amino acids, lysine, arginine, histidine, aspartic acid and glutamic acid. Cell suspension cultures from sugarcane stalk parenchyma can be grown in the synthetic medium consisting of inorganic salts, vitamins, 2,4-D and a mixture of 13 amino acids where arginine, aspartic acid and glutamic acid (15) become the most important constituents. Arginine and tyrosine have been reported to stimulate the growth of conifer callus (10). However, single amino acids and/or mixtures of amino acids can be inhibitory to the growing of cells in cultures as well. Lysine is inhibitory to the growth of carrot cells in culture while glutamic acid and proline are respectively inhibitory to the growing of cultured tobacco and soybean cell cultures (2). Similar studies have been made by other investigators (18, 20).

On the other hand, amino acids can control cell differentiation under *in vitro* conditions. Glutamic acid, or a mixture of amino acids, promotes embryo formation in carrot callus (17). Moreover, glutamine or alanine, and possibly glutamic acid, can be used as the sole source of nitrogen for growth and embryogenesis of carrot cells in culture (21).

In this investigation, we present evidence of the influence that certain amino acids or mixtures of amino acids have in the stimulation or inhibition of the root's growth and morphogenesis in tissue cultures of *Phaseolus vulgaris* leaf explants.

### Materials and Methods

**Plant material** — The explants used were obtained from the primary leaves of two-week old bean (*Phaseolus vulgaris*, cv. Carioca) grown in Hoagland and Arnon's complete nutrient solution (13), maintained in a growth cabinet (Con Viron), 26/22°C under a 15/9 h photoperiod regime. Leaves were surface sterilized in 20 per cent (v/v) commercial sodium hypochlorite for 15 minutes and then rinsed twice in sterile distilled water. Explants of ca. 4 mm<sup>2</sup> were individually inoculated into 4 oz. French square culture flasks charged with 10 ml of culture medium adjusted to pH 5.6. Twenty replicate treatments were

conducted for each test medium variation as described below, and placed in constant environment chambers, at 25°C, 12-h photoperiod, under ca 200 ft.-c— 2 000 Lux of cool-white fluorescent illumination outside the culture flasks. All tests were evaluated for callus growth and root morphogenesis at the 3rd, 5th and 7th weeks. In the latter, fresh and dry weights were determined. Growth and morphogenesis were scored using a visual evaluation scale of 0–6 for callus and a similar scale of 0–4 for the extent of root morphogenesis. Before scoring, standards were selected and used as a reference, and cultures were randomly scored with respect to the nutrient medium. Scores for callus growth and scores for root induction were averaged and the standard error of the mean calculated. The means were termed the callus growth index (GI) and the root morphogenesis index (MI), respectively.

### Nutrient medium

- a. **Basal medium (G medium)** — the basal medium used in all experiments was a modified Murashige and Skoog (14) nutrient solution (solid medium) containing mineral salts, vitamins, inositol and sucrose. The growth regulators consisted of indole acetic acid (IAA) 5 mg/l and kinetin 1 mg/l.
- b. **Controls** — the tissue cultures were grown on E medium (basal medium + 2 g/l hydrolyzed casein) and G medium (basal medium).

- c. **Amino acid supplements to the nutrient medium** — the amino acid supplements to the culture medium are based on the experimental work of Nickell and Maretzki (15):

- Medium A: basal medium + arginine (60 mg/l), aspartic acid (50 mg/l), cysteine (10 mg/l);
- Medium B: basal medium + glutamic acid (65 mg/l), glycine (25 mg/l), histidine (10 mg/l);
- Medium C: basal medium + isoleucine (30 mg/l), methionine (20 mg/l), phenylalanine (10 mg/l);
- Medium D: basal medium + proline (40 mg/l), threonine (35 mg/l), tyrosine (5 mg/l), serine (50 mg/l);
- Medium F: basal medium + thirteen amino acids (15).

- d. **Alterations in the media A and F** — alterations in Medium A were made in order to determine the effect of single amino acids, pairs of amino acids

and the interaction among the 13 amino acids of medium F. Twenty-five replicate cultures for each treatment were made.

$A^1$ : arginine;  $A^2$ : aspartic acid;  $A^3$ : cysteine;  $A^4$ : arginine + aspartic acid;  $A^5$ : arginine + cysteine;  $A^6$ : aspartic acid + cysteine.

$F^1$ : F minus arginine;  $F^2$ : F minus arginine and cysteine;  $F^3$ : F minus cysteine;  $F^4$ : F minus arginine and aspartic acid;  $F^5$ : F minus arginine and cysteine;  $F^6$ : F minus arginine and cysteine;  $F^7$ : F minus arginine, aspartic acid and cysteine.

e. Alterations in the media B and F – these modifications allowed for the study of the effects of single amino acids or groups of 2 amino acids in (medium B) and the interactions among the 13 amino acids of the Medium F.

$B^1$ : glutamic acid;  $B^2$ : glycine;  $B^3$ : histidine;  $B^4$ : glutamic acid and glycine;  $B^5$ : glutamic acid and histidine;  $B^6$ : glycine and histidine.

$F^8$ : F minus glutamic acid;  $F^9$ : F minus glycine;  $F^{10}$ : F minus histidine;  $F^{11}$ : F minus glutamic acid and glycine;  $F^{12}$ : F minus glutamic acid and histidine;  $F^{13}$ : F minus glycine and histidine.

f. Influence of glutamic acid concentration – the following glutamic acid concentrations were used:  $B_a$ : 0.0 mg/l;  $B_b$ : 0.1 mg/l;  $B_c$ : 0.3 mg/l;  $B_d$ : 0.5 mg/l;  $B_e$ : 1.0 mg/l;  $B_f$ : 5.0 mg/l;  $B_g$ : 10 mg/l;  $B_h$ : 20 mg/l;  $B_i$ : 30 mg/l;  $B_j$ : 40 mg/l;  $B_k$ : 50 mg/l;  $B_l$ : 60 mg/l;  $B_m$ : 65 mg/l;  $B_n$ : 500 mg/l;  $B_o$ : 1 000 mg/l;  $B_p$ : 2 000 mg/l. Glycine and cysteine concentrations were 25 mg/l and 10 mg/l respectively. This assay was conducted either in the presence of 2 growth regulators (IAA 5 mg/l; kinetin

1 mg/l; as in the basal medium) or 4 growth regulators (IAA 2 mg/l; kinetin 0.2 mg/l; NAA 1 mg/l; 2,4-D 1 mg/l).

## Results and discussion

### Behavior of amino acids in groups

The onset of all proliferation was delayed 2 days when the leaf explants were exposed to Medium B containing glutamic acid, glycine and histidine. Callus growth occurred in all treatments followed by root morphogenesis in some. The orthotropic (aerial) roots were less vigorous and at higher frequency than were the geotropic ones. Only treatment A containing arginine, aspartic acid and cysteine promoted morphogenesis and the occurrence of green pigmented regions in the callus, in all flasks. Figure 1 summarizes the growth index (GI) and morphogenesis index (MI). It can be observed that the highest MI ( $12.0893 \pm 0.1694$ ) occurs in cultures on Medium A, and a lower GI ( $10.8278 \pm 0.1994$ ) occurred when the 13 amino acids were used. The lowest GI ( $10.2193 \pm 0.0876$ ), and MI ( $1.0028 \pm 0.2784$ ) were obtained when glutamic acid, glycine and histidine (medium B) were used. The amino acids of Medium B are apparently inhibitory to growth and morphogenesis. The same situation has been observed in tobacco tissues growing in the presence of glutamic acid and soybean tissue in medium containing glutamine and glycine (2). Other authors have made this observation in soybean (1) and *Plumago* (16). One possible explanation is that these amino acids inhibit the assimilation of the intracellular ammonium for amino

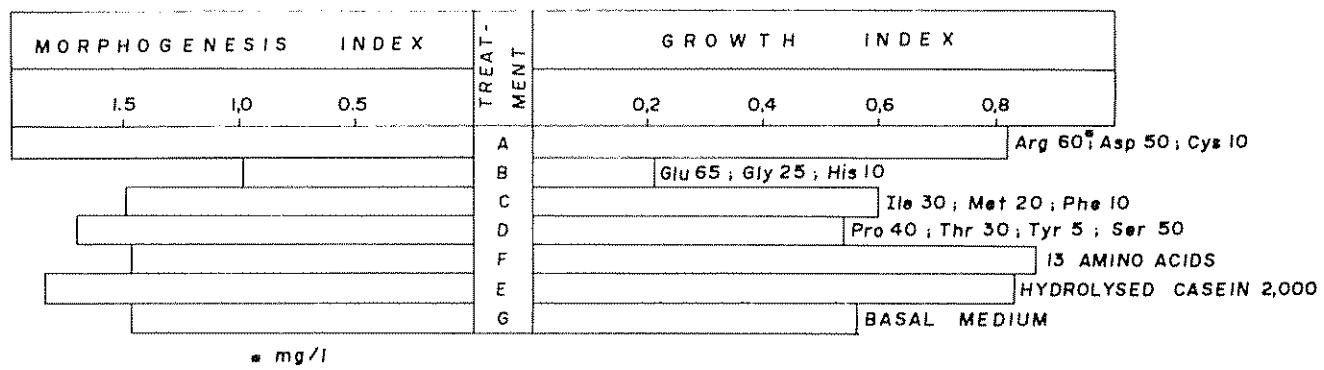


Fig 1. Influence of group of amino acids in the growth callus and root morphogenesis of *Phaseolus vulgaris* tissue culture. The number following the name of the amino acid are in mg/l of the respective amino acid.

Basal medium:  $\text{NO}_3\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (37.7 mg/l);  $\text{Kl}(0.05 \text{ mg/l})$ ;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (173.0 mg/l);  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0.25 mg/l);  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.25 mg/l);  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (250 mg/l);  $\text{KNO}_3$  (800 mg/l);  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (100 mg/l);  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (4.5 mg/l);  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (2.4 mg/l);  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0.25 mg/l);  $\text{KCl}$  (200 mg/l);  $\text{CaCl}_2 \cdot 135\text{mg/l}$ ;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (27.8 mg/l); Na EDTA (37.3 mg/l); Thiamine (8 mg/l); Pyridoxine (0.5 mg/l); Niacin (1.25 mg/l); Calcium Panthotenate (1.0 mg/l); Sucrose (20 g/l); Inositol (100 mg/l); Indole Acetic Acid (IAA) (5 mg/l); kinetin (1 mg/l); Agar (10 g/l)

acids synthesis of cells when growing in the presence of nitrate (2, 8). Our basal medium contains both nitrate and ammonium salts. The group of amino acids: arginine, aspartic acid, and cysteine promoted a higher GI as compared to other amino acid supplements while the GI was at least comparable to that of medium containing hydrolyzed casein (medium E) or 13 amino acids (medium F). Indeed, reduced nitrogen is necessary for growth and morphogenesis (18); arginine and aspartic acid are good promotores in soybean cell culture (9), and arginine in conifers (10).

#### Interactions between arginine, aspartic acid and cysteine

These three amino acids, individually, in groups of two, or all three together in the culture medium, in general behave in a similar manner in the promotion of growth and morphogenesis in bean cell cultures (Figure 2). About 50% of the cultures have root development being aerial and geotropic. Medium A<sup>1</sup> (arginine) did not differ statistically from medium A<sup>5</sup> (arginine and cysteine) and a single supplement of arginine has the same effect as a single supplement of aspartic acid or cysteine. Aspartic acid is more effective than cysteine or arginine + aspartic acid, and the comparison of arginine + cysteine is less effective than aspartic acid + cysteine. The pair arginine + aspartic acid is more promotive of GI than is the pair arginine + cysteine. Indeed, arginine, aspartic acid and cysteine together or individually promote growth of carrot cells in the presence of nitrate (2). In general, arginine is a good nitrogen source for the growth of tissue cultures (7, 16, 19).

While exogenous arginine and aspartic acid are incorporated into proteins, the rate of incorporation is dependent upon their concentrations in the external medium. Glutamic acid is not incorporated directly into protein; however, it influences the incorporation of other amino acids (4). Maybe this is an explanation for the two day delay in the onset of callus formation of cultures growing on glutamic acid in Medium B as compared to Medium A (arginine and aspartic acid).

When one considers the behavior of the 13 amino acids (medium F) (Figure 2), the GI is  $1.0598 \pm 0.1595$ . It can be observed that when one amino acid is withdrawn (medium F<sup>1</sup>), the GI is  $+0.7220 \pm 0.1228$ , and when two amino acids are withdrawn (medium F<sup>4</sup>), the GI is  $0.530 \pm 0.1830$ . Therefore, when one of the group of 13 amino acids is absent, the GI is greater than when 2 amino acids are absent. A statistical analysis confirms these visual results: GI is lower in the absence of arginine as compared to the absence of aspartic acid or cysteine from the culture medium. Aspartic acid is more promotive of GI than is cysteine.

The response to medium F<sup>6</sup> (medium F minus Asp and Cys) on GI is higher than medium F<sup>4</sup> (medium F minus Arg and Asp) and medium F<sup>5</sup> (medium F minus Arg and Cys) which can be explained on the basis of the absence of arginine in these two media. Considering the performance of these three acids, either individually or in a group of two, or in interactions with the group of 13 amino acids, the efficiency on promotion of GI is in the following order: arginine / aspartic acid / cysteine.

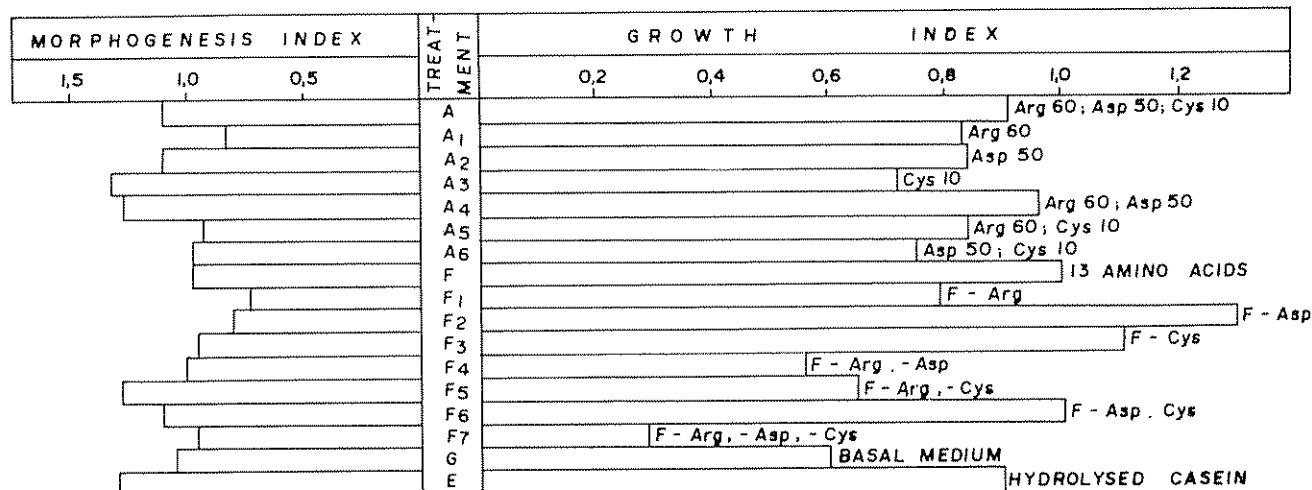


Fig. 2 Influence of arginine, aspartic acid and cysteine on the growth callus and root morphogenesis of *Phaseolus vulgaris* tissue culture

### Glutamic Acid

Figure 3 is a representation of GI and MI when glutamic acid, glycine and histidine were added to the medium, either individually or in groups of two or in interactions with the group of 13 amino acids. Almost all cultures undergo root morphogenesis. On medium A (arginine, aspartic acid and cysteine) rooting occurs at a higher frequency; however, roots are less firm and stunted. The GI was lower in the presence of the three amino acids (medium B) than the average of the media B<sup>1</sup>-B<sup>6</sup> in which the amino acids are added individually or in groups of two. Glutamic acid alone (medium B<sup>1</sup>) is promotive of a lower growth index (GI = 0.1337 ± 0.1121) than glycine (medium B<sup>2</sup>, GI = 0.3743 ± 0.1404) or histidine (medium B<sup>3</sup>, GI = 0.3534 ± 0.1188). GI in the presence of glycine + histidine (medium B<sup>6</sup>) was higher (GI = 0.3688 ± 0.1076) than the average GI in a medium containing glutamic acid + glycine (medium B<sup>4</sup>, GI = 0.2703 ± 0.2664) and glutamic acid + histidine (medium B<sup>5</sup>, GI = 0.1120 ± 0.0359). Similar observations have been made by other authors working with single amino acids inhibiting growth of tobacco cells in culture (11, 12). Glutamic acid supports a lower level of growth in soybean cells than other tested amino acids (1, 2, 9).

It can be observed in Figure 3 that when glutamic acid is withdrawn from the culture medium (medium F<sup>1</sup>) the GI is higher (GI = 0.6098 ± 0.1709) as compared to the situation when glycine (medium F<sup>2</sup>, GI = 0.5189 ± 0.1073) or histidine (medium F<sup>3</sup>, GI = 0.4567 ± 0.1177) is withdrawn. On the other hand, when glycine + histidine (medium F<sup>6</sup>) is with-

drawn from the medium, the GI is lower (GI = 0.4505 ± 0.1065) than when glutamic acid + glycine (medium F<sup>4</sup>, GI = 0.6078 ± 0.1154) or glutamic acid + histidine (medium F<sup>5</sup>, GI = 0.5444 ± 0.1231) are withdrawn.

Comparing the data in Figure 2 with that in Figure 3 it can be observed that the highest GI in the latter (corresponding to medium B and alterations) was 0.6097 ± 0.1709, while the highest GI in Figure 2 (corresponding to medium A) was 1.3035 ± 0.3108. Only 3 treatments of medium A have GIs equivalent to or lower than the highest GI in medium B, reinforcing the positive effect of the amino acids arginine, aspartic and cysteine (medium A) on the bean leaf explants.

An optimal GI occurs when concentrations of glycine and histidine are maintained and glutamic acid varied at lower concentrations (Figure 4). Glu 0.1 mg/l, GI = 0.1040 ± 0.2124; Glu 0.3 mg/l, GI = 0.7848 ± 0.1835; Glu 0.5 mg/l, GI = 1.0577 ± 0.1439. Glutamic acid concentrations of 1 mg/l and higher inhibit growth while concentrations above 50 mg/l result in a GI of ca. 0. Other authors have made similar observations in different cell culture systems (5).

It is interesting to notice the negligible stimulation of morphogenesis at lower concentrations of glutamic acid (Figure 4), while at higher concentrations morphogenesis is promoted. The peak occurs at concentrations 20-40 mg/l, the same in which callus growth is repressed. From these concentrations on, the inhibition of morphogenesis becomes clear. Indeed,

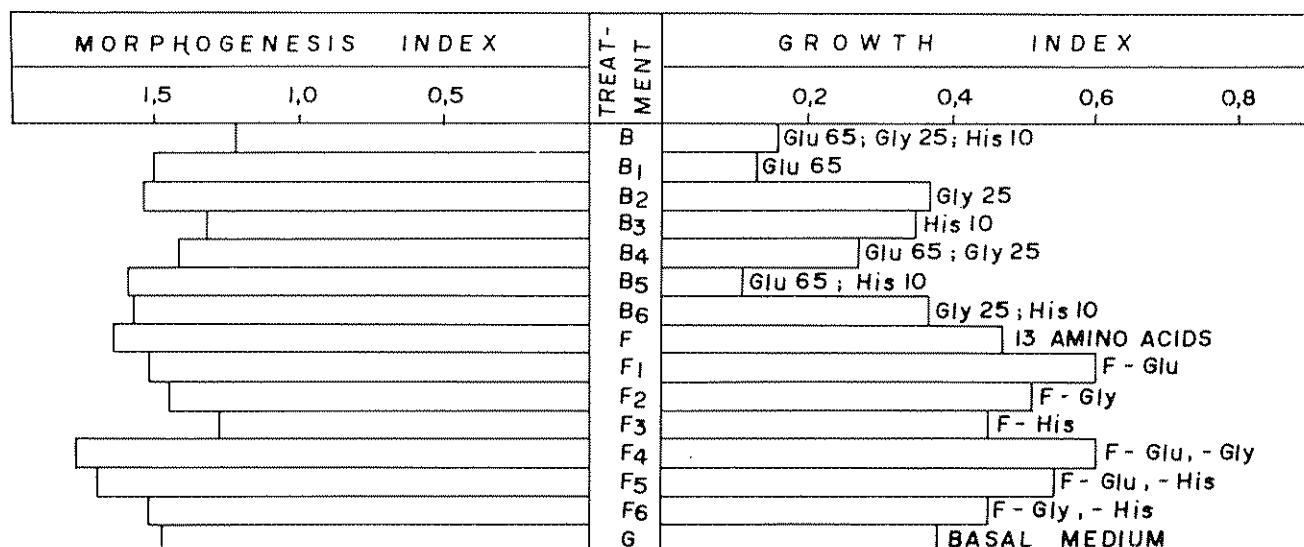


Fig. 3. Influence of glutamic acid, glycine and histidine on the growth callus and root morphogenesis of *Phaseolus vulgaris* tissue culture

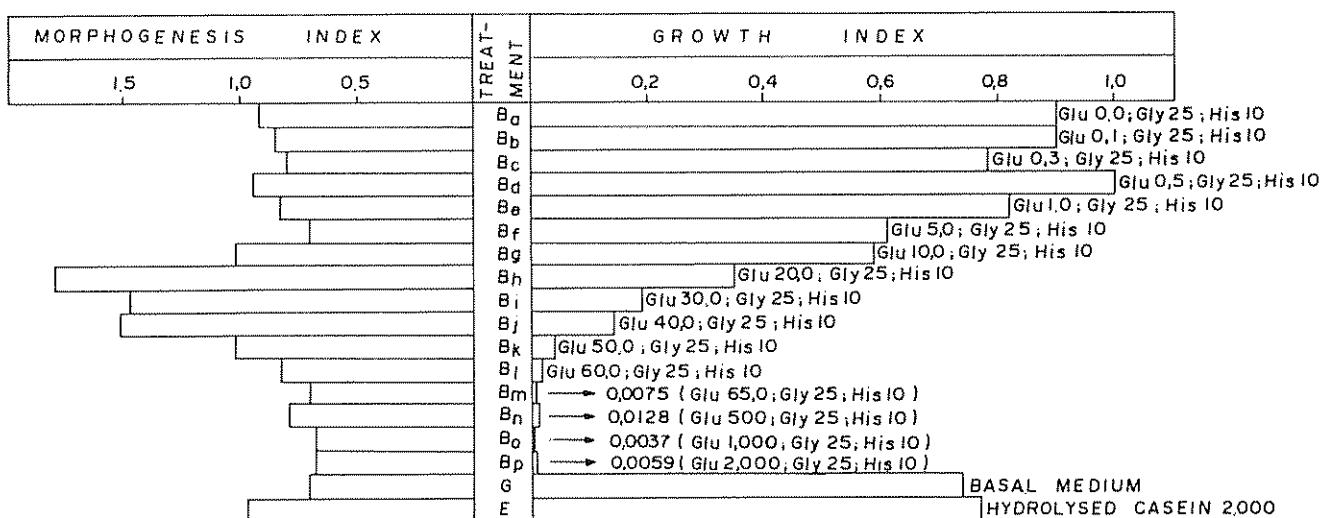


Fig. 4 Influence of different concentrations of glutamic acid on the growth callus and root morphogenesis of *Phaseolus vulgaris* tissue culture.

glutamic acid promotes and increases the formation of secondary roots (6) and concentrations of 20 mg/l increase the growth of *Datura tatula* roots in culture (6).

Table 1 summarizes the growth and morphogenetic indices of the cultures growing in presence

of different concentrations of glutamic acid and the growth regulators IAA + kinetin or IAA + kinetin + 2,4-D + NAA. Dramatic differences occur between these two kinds of treatments (2 or 4 growth regulators), mainly in concentrations of 0.1, 0.3 and 5.0 mg/l glutamic acid. These concentrations in the presence of NAA, 2,4-D and IAA promote better

Table 1. Growth and morphogenesis indexes of bean leaf explants growing in the presence of different concentrations of glutamic acid and 2 or 4 growth factors\*

Glutamic Acid mg/l	IAA + Kinetin**		IAA + Kinetin + 2,4-D + NAA***	
	GI	MI	GI	MI
0.0	0.9006 ± 0.1941	0.9899 ± 0.5803	2.8069 ± 0.3439	0.8839 ± 0.5000
0.1	0.9040 ± 0.2124	0.8839 ± 0.4830	3.1691 ± 0.5312	0.7071 ± 0.0918
0.3	0.7848 ± 0.1835	0.8081 ± 0.3780	3.0782 ± 0.5645	0.8106 ± 0.2182
0.4	1.0577 ± 0.1439	0.9716 ± 0.5428	3.1763 ± 0.5929	1.0789 ± 0.6148
1.0	0.8299 ± 0.1721	0.7803 ± 0.2273	2.4852 ± 0.9743	0.7071 ± 0.0876
5.0	0.6120 ± 0.1834	0.7071 ± 0.1010	2.0269 ± 0.7656	0.8642 ± 0.4714
10.0	0.5940 ± 0.2991	1.1187 ± 0.6395	1.1153 ± 0.3291	0.7071 ± 0.0765
20.0	0.3567 ± 0.0908	1.7827 ± 0.5952	1.4921 ± 0.4607	1.4264 ± 0.6370
30.0	0.1913 ± 0.1381	1.4786 ± 0.7054	0.8734 ± 0.8180	1.2061 ± 0.6930
40.0	0.1479 ± 0.0952	1.5127 ± 0.7081	1.1736 ± 0.3568	1.1435 ± 0.6023
50.0	0.0676 —	1.1334 ± 0.6556	0.7004 ± 0.7714	1.0906 ± 0.5910
60.0	0.0214 —	0.8560 ± 0.4459	0.1169 ± 0.0721	0.8939 ± 0.4044
65.0	0.0077 —	0.7071 ± 0.0706	0.5408 ± 0.4360	1.1493 ± 0.6128
500.0	0.0128 —	0.8543 ± 0.2716	0.0199 —	0.7810 ± 0.1956
1 000.0	0.0037 —	0.7071 ± 0.0690	0.0040 —	0.7071 ± 0.0853
2 000.0	0.0059 —	0.7071 ± 0.071	0.0010 —	0.7071 ± 0.0795
Medium G	0.7392 ± 0.1907	0.7646 ± 0.1674	3.5034 ± 0.4157	0.8810 ± 0.1830
Medium E	0.7725 ± 0.2148	0.9774 ± 0.5569	2.2492 ± 0.6127	0.7718 ± 0.3359

\* Glycine 25 mg/l; histidine 10 mg/l

\*\* IAA 5 mg/l; kinetin 1 mg/l

\*\*\* IAA 2 mg/l; kinetin 0.2 mg/l; NAA 1 mg/l; 2,4-D 1 mg/l

development of calluses. In conifers, a supplement of amino acids to a medium with more than one auxin promoted increased growth (10).

The calluses growing on IAA + kinetin are more compact and light brown in color, while those formed in the presence of IAA + kinetin + 2,4-D + NAA are cream colored and friable. Soybean callus growing in the presence of IAA and kinetin is white and compact (22), while in 2,4-D the callus is yellow and friable. Treatments with four growth regulators result in stunted roots with a reduced diameter, while roots resulting from cultures on medium with two growth regulators are elongated, aerial or geotropic and occur at a higher frequency. In beans, kinetin promotes cell division and in the presence of IAA morphogenesis is promoted as well (3). Root morphogenesis does not occur in the absence of kinetin.

The influences of glutamic acid is not the same for promotion of growth and morphogenesis (Table 1). In both treatments (2 and 4 growth factors), the best GIs were obtained when glutamic acid concentration was low, with a dramatic decrease in GI above 5.0 mg/l. On the other hand, the best MIs were obtained at intermediary concentrations of glutamic acid with a peak at 5.0 mg/l in the presence of either 2 or 4 growth regulators.

### Conclusions

Experiments on the effects of exogenous concentrations of amino acids either individually or in groups on the control of growth and morphogenesis in *Phaseolus vulgaris* tissue cultures, provide evidence that the group of amino acids: arginine, aspartic acid and cysteine regulate cell proliferation and morphogenesis. The three amino acids either individually or in groups of two or three promote increased growth and root morphogenesis. On the other hand, the amino acids glutamic, glycine and histidine are inhibitory to growth and morphogenesis. Glutamic acid, depending on the concentration, can inhibit or stimulate growth and morphogenesis with low concentration being promotive and high concentration inhibitory. Optimal callus growth was obtained in the presence of 4 growth regulators (IAA, NAA, 2,4-D and kinetin) in the presence of glutamic acid, glycine and histidine.

### Summary

Bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca, were germinated in sand and maintained in a Hoagland and Arnon's nutrient solution number 2.

Plants from the first pair of leaves were aseptically removed and inoculated onto a modified Murashige and Skoog (1962) agar culture medium. The medium contained mineral salts, vitamins, and sucrose. Growth regulators used in the medium consisted of kinetin and IAA together or kinetin, IAA, NAA and 2,4-D. The pH of all media was adjusted to 5.6 after the addition of all the nutrients. Individual amino acids or groups of amino acids were added to the basal medium in order to study the interactions of these substances in the promotion of callus growth and root morphogenesis. Two kinds of cultures were maintained as standards. One containing hydrolyzed casein as a reduced nitrogen source (medium E) and the other containing basal medium in the absence of amino acids and casein hydrolysate. The MI (Morphogenesis Index) and GI (Growth Index) were calculated from the compiled data and tabulated. According to the results of the analysis, the culture medium A containing basal medium with kinetin (1 mg/l), IAA (5 mg/l) and a group of three amino acids: arginine (60 mg/l), aspartic acid (50 mg/l) and cysteine (10 mg/l) promoted optimal morphogenesis.

Medium B containing basal medium with kinetin (1 mg/l), IAA (5 mg/l) and a group of three amino acids: glutamic acid (65 mg/l), glycine (25 mg/l) and histidine (10 mg/l) was inhibitory to both growth and morphogenesis. Data resulting from the testing of 16 glutamic acid concentrations in the presence of fixed concentrations of glycine and histidine revealed that the presence of glutamic acid, *per se*, in medium B was not responsible for growth inhibition but rather the concentration of glutamic acid used (65 mg/l). One can conclude, therefore, that low concentrations of glutamic acid (0.5 mg/l) are promoters of growth, while higher concentrations are inhibitory. Optimal callus growth was obtained in medium B<sup>4</sup>, in which four hormones kinetin (0.2 mg/l), IAA (2 mg/l), NAA (1 mg/l) and 2,4-D (1 mg/l) were added to the basal medium together with a group of three amino acids: glutamic acid (0.5 mg/l), glycine (25 mg/l) and histidine (10 mg/l).

### References

1. BAYLEY, J. M., J. KING and O. L. GAMBORG. The ability of amino compounds and conditioned medium to alleviate the reduced nitrogen requirement of soybean cells grown in suspension cultures. *Planta (Berl.)*, 105: 25-32, 1972.
2. BEHREND, J. and R. I. MATELES. Nitrogen metabolism in plant cell suspension cultures. *Plant Physiology*, 56:584-589, 1975.

3. CROCOMO, O. J., W. R. SHARP and J. E. PETERS. Plantlet morphogenesis and the control of callus growth and root induction of *Phaseolus vulgaris* with the addition of a bean seed extract. Z Pflanzenphysiology 78: 456-460, 1976.
4. DOUGALL, D. K. and M. M. FULTON. Biosynthesis of protein amino acids in plant tissue culture. IV. Isotope competition using glucose-U- $^{14}\text{C}$  and potential intermediate. Plant Physiology, 42:941-945, 1967.
5. FILNER, P. Regulation of nitrate reductase in cultured tobacco cells. Biochemical Biophysical Acta., 118:299-310, 1966.
6. FRENCH, D. L. and M. R. GIBSON. The effect of glutamic acid on *Datura tatula*, L. root culture. Journal American Pharmacology Association Science Ed. 46(3):151-155, 1957.
7. FURUHASHI, K. and M. YATAZAWA. Amino acids as nitrogen sources for the growth of rice callus tissue. Plant & Cell Physiology, 11:559-567, 1970.
8. GAMBORG, O. L. The effects of amino acids and ammonium on the growth of plant cells in suspension culture. Plant Physiology 45:372-375, 1970.
9. GAMBORG, O. L., R. A. MILLER and K. OJIMA. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Experimental Cell Research, 50:151-158, 1968.
10. HARVEY, A. E. and J. L. GRASHAM. Procedures and media for obtaining tissue cultures of 12 conifer species. Canadian Journal Botany, 47:547-549, 1969.
11. HEIMER, Y. M. and P. FILNER. Regulation of the nitrate assimilation pathway of cultured tobacco cells. Biochemical Biophysical Acta., 215:152-165, 1970.
12. HEIMER, Y. M. and P. FILNER. Regulation of nitrate assimilation pathway in cultured tobacco cells. III. The nitrate uptake system. Biochemical Biophysical Acta., 230:262-372, 1971.
13. HOAGLAND, D. R. and D. I. ARNON. The water-culture method for growing plants without soil. Californian Agricultural Experimental Station Circle. 347, 1950.
14. MURASHIGE, T. and F. SKOOG. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiology Plant, 15:473-497, 1962.
15. NICKELL, L. G. and A. MARETZKI. Growth of suspension cultures of sugarcane cells in chemically defined media. Physiology Plant, 22:117-125, 1969.
16. NITSCH, J. P. and C. NITSCH. Auxin-dependent growth of excised *Helianthus tuberosus* tissues. II. Organic nitrogenous compounds. American Journal Botany, 37:538-547, 1957.
17. REINERT, J., M. TAZAWA and S. SEMENOFF. Nitrogen compounds as factors of embryogenesis *in vitro*. Nature, 216:1 215-1 216, 1967.
18. SHARP, W. R. and O. J. CROCOMO. Application of nuclear energy to the study of cellular and developmental biology. A Series, Vol. I and II. Handbook of plant tissue culture (Part I and Part II). CENA, Piracicaba, 1975.
19. STEINHAET, C. E., L. C. STANDIFER and F. SKOOG. Nutrient requirements for *in vitro* growth of spruce tissue. American Journal Botany, 48:465-472, 1961.
20. TONIN, G. S. Cultura de tecido de folha de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) influência de aminoácidos. M. S. Dissertation, CENA, Piracicaba, 108 pp., 1978.
21. WETHERELL, D. F. and D. K. DOUGALL. Sources of nitrogen supporting growth and embryogenesis in cultured wild carrot tissue. Physiology Plant., 37:97-103, 1976.
22. WITHAM, F. H. Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the cytokinin requirement of soybean cotyledon and tobacco stem pith callus tissues. Plant Physiology, 43:1 455-1 457, 1968.

## COMUNICACIONES

### Control of Yellow Sigatoka of Banana with "Delsene" M-200 a new Carbendazim/Mancozeb fungicide

**Sumario.** Fueron comparados tres fungicidas para el control de la Sigatoka Amarilla (*Mycosphaerella musicola*). Ellos fueron "Delsene" M-200, "Benlate" O D y Spraytex C T. Aunque no hubo diferencias significativas entre "Delsene" y "Benlate", ambos fueron significativamente mejores que "Spraytex" C. T. Sin embargo, hubo mayor número de hojas más sanas con la aplicación de "Delsene" M-200 que con la de "Benlate" O D. Por ello se considera que "Delsene" M-200 es una alternativa conveniente de fungicida respecto a "Benlate" O D y que esta nueva combinación en el uso de fungicidas puede reducir la amenaza de que se desarrollen mutantes resistentes del hongo *M. musicola*.

Light petroleum oil has been used for many years to control Yellow Sigatoka (*Mycosphaerella musicola* Leach) in Jamaica and other banana producing countries. Shillingford (6) found benomyl to be much more effective than oil against this disease in Jamaica and it is now added to oil for use in areas prone to severe disease outbreaks.

It has been found that intensive and exclusive use of systemic fungicides can result in selecting out resistant fungal mutants (1, 2). The occurrence of benomyl resistant strains of *Cercospora* has already been demonstrated for celery, peanuts, and sugar beet (3, 4, 5).

Benzimidazole-resistant strains of *M. musicola*, due to spraying with methyl thiophanate, have been reported on bananas in Suriname and resistance of *M. fijiensis* var *diffiformis* (Black Sigatoka) to benomyl was detected in Central America (8). To cope with this problem, the use of more than one fungicide with different mechanisms of action has been recommended as an effective method of preventing the build-up of resistant strains. Also, banana researchers in the French Antilles claim that there is less chance of selecting resistance when benomyl is used with oil compared to its use in oil-water emulsion. Various programs were suggested, but benomyl combined with a protectant fungicide was thought less likely to cause resistance than when it is used in rotation with these fungicides (2, 7).

This paper reports on the effectiveness of a new formulated combination of carbendazim and

mancozeb in controlling Yellow Sigatoka in Jamaica and compares it with benomyl and paraffinic oil.

### Materials and methods

The experiment was conducted from December 1977 to January 1979 on a 88.8 ha-plantation at Golden Vale, Portland, Jamaica –a valley with high humidity and high disease pressure. Total rainfall for 1978 was 481.8 cm (Figure 1) and hence the test was conducted under conditions favoring severe disease development. The plantation was sub-divided into three blocks of 24.8, 25.2 and 38.8 ha to which tank-mixed "Delsene" M-200/oil, "Benlate" OD/oil and Spraytex CT oil were applied respectively. The rates tested were:

"Delsene" M-200 (E. I. DuPont de Nemours) 10 percent methyl 2-benzimidazole carbamate plus 64 percent of a coordination product of zinc ion and manganese ethylenebisdithiocarbamate at 1.12 kg per 20 l oil/ha;

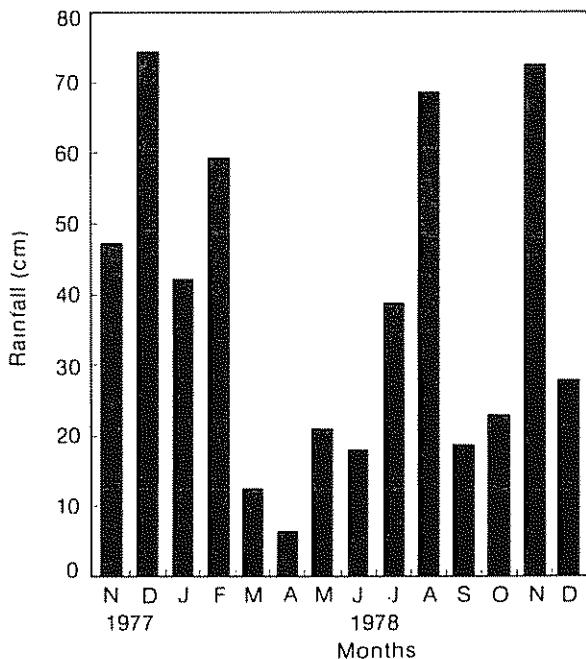


Fig. 1. Rainfall in cm for November 1977 to December 1978 at Golden Vale

"Benlate" OD, (E. I. DuPont de Nemours) 50 percent oil dispersible benomyl [methyl 1-(butylcarbamoyl)-2benzimidazole-carbamate] at 0.21 kg per 20 l oil/ha; and

Spraytex CT (Texaco Caribbean Inc.) Paraffinic oil (unsulphonate residue of not less than 92% vol., °API gravity 34.5-36.5, viscosity of 75-85 SUS at 100°F. and IBP 650 ± 5) at 20 l/ha.

All treatment were applied by fixed-wing aircraft flying at 10 to 12 m above the canopy. Carbendazim/mancozeb and benomyl were applied 18 times between February and December, 1978 on a 14-21 days' cycle. Oil alone was applied 20 times on a 14-21 days' cycle up to May and then on a 10-14 days' cycle in response to high disease pressure following the rains from May onwards (Figure 1).

Four plots were randomly selected in each treatment block and 20 mature, non-flowering plants in the center of each plot were assessed every two weeks. Percentage leaf necrosis on the fourth through ninth fully-opened leaf, the position of the youngest fully-opened leaf with spotting and the total number of standing leaves were recorded.

### Results and discussion

The results are shown in Table 1, Figures 2 to 4. Carbendazim/mancozeb and benomyl were significantly better than oil in controlling Yellow Sigatoka. There were no significant differences between carbendazim/mancozeb and benomyl in mean percentage spotting, but, for age of youngest leaf spotted and number of standing leaves per plant, carbendazim/mancozeb was significantly better than benomyl. There was very little increase in leaf

spotting up to a month after the last application of the two fungicides on December 14. However, in the oil treatment block, over the same period, spotting began to increase rapidly (Figure 2). This effect was probably due to lower inoculum in the fungicide/oil treatments resulting from reduced foliar necrosis; and the longer residual activity of the fungicides.

This report demonstrates that a carbendazim/mancozeb spray program gives better control of Yellow Sigatoka than benomyl and may reduce the risk of pathogen resistance.

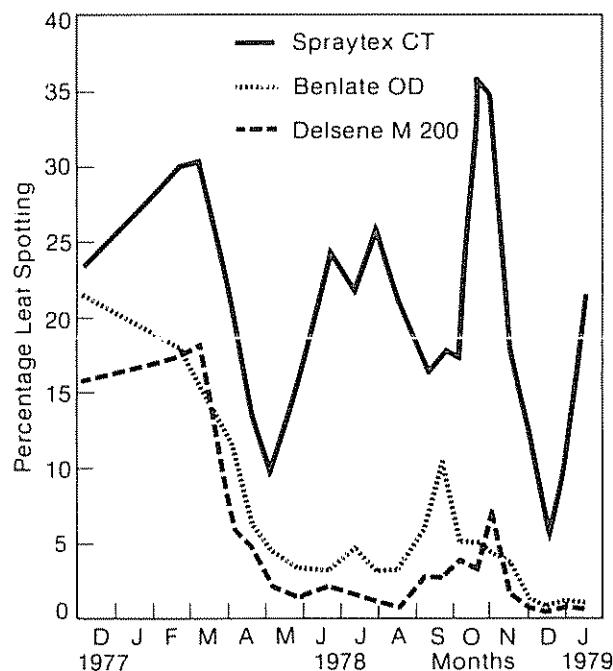


Fig. 2. Mean percentage leaf spotting in plots sprayed with "Delsene" M-200, "Benlate" OD and Spraytex CT oil at Golden Vale

Table 1. Means<sup>1</sup> for percentage spotting, age of youngest leaf spotted and number of leaves per plant in plots treated with "Delsene" M-200, "Benlate" OD and Spraytex CT oil.

Fungicide	Mean percentage spotting	Mean age of <sup>2</sup> youngest leaf spotted	Mean number of leaves per plant
Carbendazim/mancozeb + oil	2.53 <sup>3</sup> a	10.05 a	11.25 a
Benomyl + oil	4.20 a	9.58 b	11.08 b
Oil	18.53 b	6.50 c	10.80 c

1. Means are based on nine assessments in four plots per treatment.

2. The position of the youngest leaf spotted is determined by counting downwards from the first fully opened to the oldest standing leaf.

3. Means followed by the same letters in a column are not significantly different at the 5% level by Duncan's Multiple Range Test.

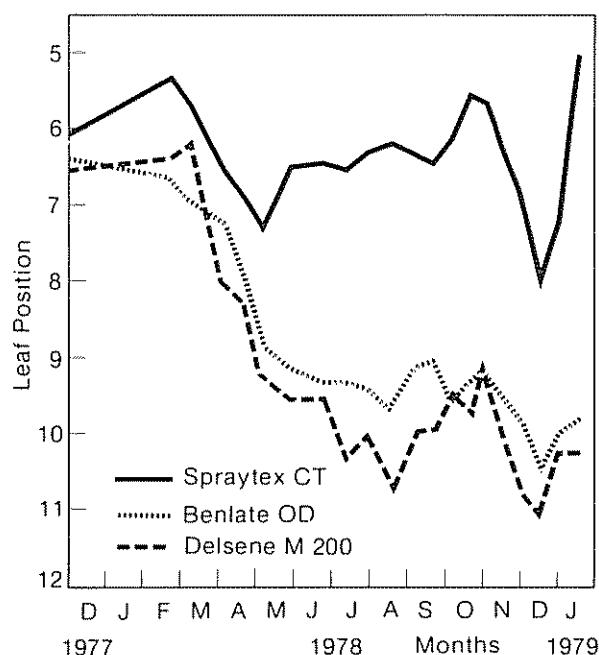


Fig. 3. Mean age of youngest leaf spotted in plots sprayed with "Delsene" M-200, "Benlate" OD and Spraytex CT oil at Golden Vale

#### Abstract

"Delsene" M-200/oil (carbendazim/mancozeb) was evaluated for control of Yellow Sigatoka (*Mycosphaerella musicola*) and compared with "Benlate" OD/oil (benomyl) and Spraytex CT oil. "Delsene" M-200/oil and "Benlate" OD/oil were applied at 1.12 and 0.21 kg/20 l oil/ha, respectively. Spraytex CT alone was applied at 20 l/ha. All fungicides were applied by fixed-wing aircraft. "Delsene" M-200/oil and "Benlate" OD/oil were significantly better than Spraytex CT oil in controlling Yellow Sigatoka. There were no significant differences between "Delsene" M-200/oil and "Benlate" OD/oil in percentage spotting. However, there were more completely healthy and more standing leaves on plants treated with "Delsene" M-200 compared with "Benlate" OD. "Delsene" M-200 is considered a suitable alternative to "Benlate" OD and this new combination fungicide may reduce the threat of a build-up of resistant strains of *M. musicola*.

November 4, 1980.

MAXINE P. TURNER\*  
SUZANNE CHAN\*  
C. A. SHILLINGFORD\*

\* Senior Plant Pathologist, Plant Pathologist and Director of Research, respectively. Banana Board Research & Development Department, Kingston, Jamaica.

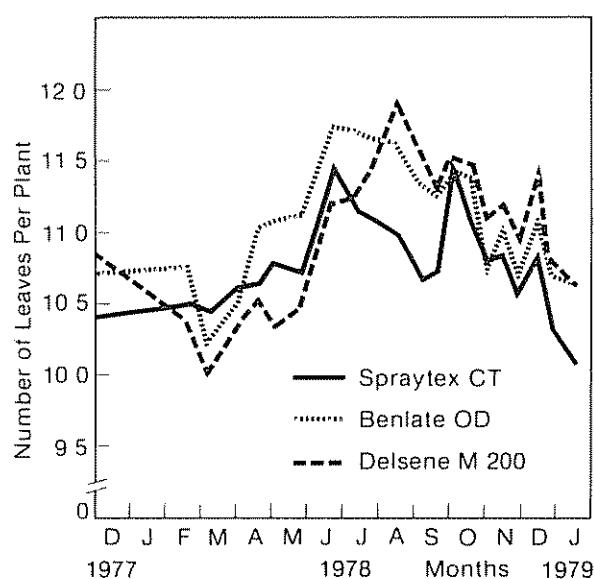


Fig. 4. Mean number of leaves per plant in plots sprayed with "Delsene" M-200, "Benlate" OD and Spraytex CT oil at Golden Vale.

#### Literature cited

- DEKKER, J. Acquired resistance to fungicides. Annual Review Phytopathology 14:405-428. 1976.
- DELP, C. J. Resistance to plant disease control agents. How to cope with it. 9th International Congress of Plant Protection, Washington, D. C. 1979.
- BERGER, R. D. Disease Progress of *Cercospora apii* resistant to benomyl. Plant Disease Reporter 57:837-840. 1973.
- LITTRELL, R. H. Tolerance in *Cercospora arachidicola* to benomyl and related fungicides. Phytopathology 64:1377-1378. 1974.
- RUPPEL, E. G. and SCOTT, P. R. Strains of *Cercospora beticola* Resistant to benomyl in the U.S.A. Plant Disease Reporter 58:434-436. 1974.
- SHILLINGFORD, C. A. "Benlate" for Sigatoka control. Annual Report 1974, Banana Board Research and Development Department, Jamaica. 1975. 36-41.
- SMITH, D. H. and LITTRELL, R. H. Management of peanut foliar diseases with fungicides. Plant Disease Reporter 64:356-361. 1980.
- STOVER, R. H. Recent Developments in Control of Banana Leaf Spot Diseases. Proc. 4th ACORBAT Meeting, Panama. 1979. 57-65.

**Multiple nest queens of *Atta texana* (Buckley 1860):  
Hymenoptera: formicidae).**

**Sumario.** Se descubrió que una colonia joven de *Atta texana* tenía 16 reinas fértiles. Esto sugiere la posibilidad de que las reinas colaboren para desarrollar un nido grande. Hasta ahora éste es el único caso documentado donde la pleometrosis conduce, aparentemente, a una poliginia.

One problem facing managers of pine plantations in Louisiana and Texas is that some young colonies of the Texas leafcutting ant apparently have explosive population growth and, unless controlled, defoliate young plantations. Other colonies remain small, causing only minor damage.

Field workers have long felt that large colonies of *Atta texana* have multiple fertile queens (polygyny), and smaller colonies have only one (monogyny) or perhaps two. But this hypothesis has not been documented or rigorously tested, because of extreme difficulties in locating fertile queens in nests. Walter *et al.* (8) found 3 queens in a single cavity, Moser (4) reported 7 (5 from a single cavity) from a large nest, and Echols (2) found 2 queens in 3 of 97 new nests he dug up.

We do not know colonies get multiple queens. Echols (2) showed that very young colonies and their queens were compatible with other young colonies and queens in the laboratory; he suggested that the fast growth and development of some young nests is due to the merging of several adjacent colonies as their nests enlarge. But Moser (unpublished) has demonstrated that this compatibility is lost at some unknown age as *A. texana* colonies mature. When older colonies (with or without queens) were excavated and placed in laboratory nests, their workers quickly killed queens and workers introduced queens from other colonies. So, any nest enlargement due to colony merging probably takes place only when colonies are young.

Moser (5) showed that as many as 8 winged queens (mated or unmated) attracted to light during a mating flight may aggregate while founding new nests (pleometrosis). This discovery suggested queen aggregation as yet another mechanism accounting for the rapid development of large nests.

#### Material and methods

On May 16, 1979, we dug up a small (about 2 year-old) nest in Rapides Parish, Louisiana. The nest had only one visible entrance hole, which angled at about

45° to a single cavity about 1 m away. The entrance angle showed that the nest was older than 1 year because 1-year-old nests always have 90° entrance holes. The cavity was about 0.5 m diameter, about 0.5 m high, and the top of the cavity was about 0.6 m from the surface of the sandy soil. The cavity was completely filled with a fungus garden containing 16 queens and thousands of brood and workers. The queens were presumed fertile, because they were dealate, because no mating flights had yet taken place in 1979, and because the colony was too small to produce alates. And the quantity of brood suggests that most queens were laying eggs. A large nest of *A. texana* was present about 80 m away, but this nest was probably not part of the small nest that we excavated.

#### Results

The small size of this nest and the absence of other small nests in the same area suggests that this nest was not formed by colony merger (secondary polygyny). The 16 queens probably landed in the immediate vicinity and aggregated to form the nest. Not only does this find more than double the previous record for nest queens, but it also verifies for the first time the presence of many nest queens in small colonies-potential origins for explosive colony growth.

After being dug up, the colony was immediately transported to the Minneapolis, Minnesota Zoo and put on display. At the time of this writing (August 1980) five of the 16 queens were still alive. One of the queens died during the move, and the others died at more or less regular intervals. Only three (which died in May 1980) were checked for fertility. The spermathecae of all three were full.

#### Sociobiological implications

*Atta texana* is the only known occurrence of pleometrosis apparently leading smoothly to polygyny in ants. Rettenmeyer and Watkins (7) have the only other documented case of ant polygyny-for an army ant, *Neivamyrmex carolinensis* (Emery 1894). This species has primary polygyny-colonies are started by swarming. Ants usually start a colony with a single queen (haplometrosis), but sometimes they have multiple queens (pleometrosis) (6). Haplometrotic nests may later add extra queens and pleometrotic nests may retain the multiple queen system for awhile. But, in either case, most colonies eventually have just one queen. Some species are

oligogynous—multiple queens exist in colonies, but each has her own territory.

For *A. texana*, then, both haplometrotic and pleometrotic colony formation is possible. We do not know whether colonies in nature may add extra queens by adoption as they can in the laboratory (2). But our finding of 16 queens in an apparently 2-year-old colony strongly suggests that its origin was pleometrotic, because 16 independent colonies are unlikely to have combined so quickly.

This finding and several unpublished excavations of polygynous mature colonies suggest that polygyny is frequent in *A. texana*. And the colonies do not seem to be oligogynous, for they have no territorial divisions. In older polygynous colonies brought into the laboratory, queens have not fought, nor have they developed individual retinues of workers.

Pleometrosis seems to be rare but is known to occur with *Atta sexdens* Huber (3) and *Atta cephalotes* (L. 1758) (9). And, as with *A. texana*, workers in an orphaned laboratory colony of *A. sexdens* "threw out" foreign queens, but when the original queen was returned 5 months later, she was immediately accepted (1).

Despite the thousands of nests that have been excavated for other species of leafcutting ants, there are no published records of true polygyny, though R. D. Akre (personal communication) found several queens in a very large nest of *Atta sexdens* (L. 1758); but those queens were in different cavities far apart and were probably oligogynous.

### Summary

The discovery of 16 fertile queens in one young *Atta texana* colony suggests that some small nests develop rapidly into large nests because they have more than one queen. *Atta texana* is the only documented case of pleometrosis apparently leading smoothly to polygyny.

January 10, 1980.

J. C. MOSER\*  
J. R. LEWIS\*

### Literature cited

1. AUTUORI, M. Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta* spp.—Hymenoptera-Formicidae) IV—O sauviro depois da revoada (*Atta sexdens rubropilosa* Forel 1908). Arquivos Instituto Biológico 18:39-70. 1947.
2. ECHOLS, H. W. Compatibility of separate nests of Texas leaf-cutting ants. Journal of Economic Entomology 59:1 299-1 300. 1966.
3. HUBER, J. The founding of colonies by *Atta sexdens*. The Smithsonian Report for 1906. 1 762:355-372. 1907.
4. MOSER, J. C. Contents and structure of *Atta texana* nest in summer. Annals of the Entomological Society 56:286-291. 1963.
5. MOSER, J. C. Mating activities of *Atta texana* (Hymenoptera-Formicidae). Insects Sociaux 16:295-312. 1967.
6. OSTER, G. F. and WILSON, E. O. Cast and ecology in the social insects. Princeton University Press, Princeton, New Jersey. 1978. 352 p.
7. RETTENMEYER, C. W. and WATKINS, J. F. Polygyny and monogyny in army ants (Hymenoptera-Formicidae). Journal of Kansas Entomology 51:581-591. 1978.
8. WALTER, E. V., SEATON, L., and MATHEWS, A. A. The Texas leaf-cutting ant and its control. U. S. Department of Agriculture Circular 494:1-18. 1938.
9. WEBER, N. A. The biology of the fungus-growing ants. Part III. Nesting habits of the bachac (*Atta cephalotes* L.). Tropical Agriculture 14:223-226. 1937.

\* Southern Forest Experiment Station, Forest Service, U. S. Department of Agriculture, Pineville, Louisiana 71360; and, Minnesota Zoological Garden, Apple Valley, Minnesota 55124 USA.

**Características químicas de las semillas de Tarhui (*Lupinus mutabilis*) cosechadas en Cuzco, Perú\*.**

**Abstract.** Tarhui (*Lupinus mutabilis*) is a legume native to the Highlands (2 500 — 4 500 m above sea level) of Peru, with appreciable resistance to frost, drought and poor soils. Results obtained in this work confirms that tarhui growing up in Cuzco has a high protein content (42.7% on the average) and is a significant oil source (18.4% on the average). Tarhui is a bitter tasting legume due to the presence of alkaloids (0.92 to 1.36%) which must be leached out before tarhui can be used as food.

Dentro del Proyecto IICA — Fondo Simón Bolívar en el Perú, que en área de investigación se lleva a cabo en cooperación con el Instituto Nacional de Investigación y Promoción Agropecuaria, se ha dado importancia al cultivo del tarhui (*Lupinus mutabilis*) por considerarse que, juntamente con la quinua (*Chenopodium quinoa*), es una planta de gran interés para la alimentación de la población que habita en la región altoandina peruana, por encima de los 2 500 m de altitud.

El tarhui es una leguminosa nativa de la Cordillera Andina, en especial del tramo que corresponde al Perú. La utilización de sus semillas como alimento se remonta a la época preincaica (1) cuando empezaron a considerarlo como uno de los componentes en la nutrición humana. El tarhui es rico en aceite y proteína (5), pudiendo ser consumido en dietas alimenticias una vez removidos los alcaloides presentes en la semilla.

La investigación del tarhui en el Perú se inició en 1970 en la Universidad San Antonio Abad del Cuzco (2), a partir del material genético recolectado en los Departamentos de Apurímac, Cuzco y Puno. Después, debido a los esfuerzos del Ministerio de Agricultura, y del Proyecto Lupino a cargo de los Institutos Nacionales de Salud, con apoyo del Gobierno de Alemania Federal, el cultivo de tarhui fue promovido en distintas regiones del país. Así, en las campañas 1978/79 y 1979/80 se sembraron alrededor de 6 000 hectáreas en cada una de ellas (4), habiéndose obtenido una productividad media de unos 1 000 kg/ha. La colaboración del Proyecto IICA—Fondo Simón Bolívar en la investigación en tarhui se inició a partir de 1977 (6), concentrándose las acciones en el incremento de germoplasma y manejo agronómico.

El objeto de la presente publicación es dar a conocer determinadas características químicas de las semillas de algunas selecciones de tarhui, tratando de establecer relaciones entre los elementos y compuestos analizados.

### Materiales y métodos

Se trabajó con 6 selecciones de tarhui: SCG-8, SCG-9, SCG-22, SCG-25, R-4 Cuzco, y K'ayra, procedentes del banco de germoplasma de la Universidad Nacional San Antonio Abad de Cuzco, sembradas y cosechadas en el Campo Experimental de Andenes de la Estación Experimental del Cuzco.

Andenes se encuentra situado a 3 440 m de altitud, con temperatura media anual de 10°C y una precipitación de 725 mm/año. De acuerdo con la clasificación del sistema ecológico de Holdridge, el área pertenece al bosque húmedo montano subtropical. Los suelos de Andenes son franco arcillosos, de mediana a buena fertilidad, buen drenaje, y con reacción próxima a la neutralidad.

Cada muestra para los análisis fue sacada de un kilogramo de semillas tomadas al azar en las distintas parcelas experimentales. Los alcaloides se determinaron por cromatografía de capa fina, los otros compuestos mediante análisis proximal, el nitrógeno por Kjeldahl, y los restantes elementos por absorción atómica. Se realizó un análisis de correlación múltiple.

### Resultados y discusión

Como puede apreciarse en el Cuadro 1, las selecciones analizadas tienen unos promedios de 42.7% en proteínas, 18.4% de extracto etéreo y 24% de carbohidratos, los cuales en comparación con otros alimentos típicos de la población altoandina (7) resultan altos en proteínas, aceites y grasas, y bajos en carbohidratos. Es interesante anotar que el tarhui tiene cierta complementariedad con la quinua, cuya composición media (3) es de 63% en carbohidratos, 14% en proteínas, y 4.5% en extracto etéreo. Posiblemente por ello, ambos rubros son componentes importantes en la nutrición humana regional desde hace muchos siglos. La correlación entre esos tres compuestos no es significativa, encontrándose para carbohidratos y extracto etéreo ( $r = 0.612$ ) la relativa mejor asociación.

El contenido medio de los alcaloides llega al 1.10%, lo cual significa que las seis selecciones analizadas deben ser desamargadas para ser utilizadas

\* Estudio realizado dentro del Proyecto IICA—Fondo Simón Bolívar, Perú.

Cuadro 1. Humedad y compuestos orgánicos principales del Tarhui (base seca). Resultados en %.

Variedades	Humedad	Proteína	Extracto etéreo	Carbohidratos	Alcaloides *
SCG-8	7.68	42.5	17.9	24.3	1.13
SCG-9	7.52	41.4	19.2	23.9	0.97
SCG-22	7.54	43.9	18.8	25.0	1.20
SCG-25	7.72	45.4	18.6	24.3	0.92
R-4 Cuzco	7.61	42.0	17.2	22.8	1.36
K'ayra	7.76	41.1	18.5	23.6	1.04
Promedios	7.60	42.7	18.4	24.0	1.10
Desv. Estándar	1.87	1.64	0.71	0.74	0.16

\* Base húmeda.

como alimento. En la Figura 1 aparecen individualizados los alcaloides, encontrándose su concentración en el orden siguiente: Luponina, esparteína, hidroxilupanina. Adicionalmente, se detectaron otros cinco alcaloides en las selecciones SCG-8, SCG-22 y R-4 Cuzco, mientras que fueron cuatro para SCG-9, SCG-25 y K'ayra. Se encontró que los alcaloides aumentaron a medida que disminuía el contenido de extracto etéreo ( $r = -0.749$ ). Las demás correlaciones entre los compuestos fueron muy débiles.

En el Cuadro 2 se encuentran los porcentajes y concentraciones de los elementos químicos determinados. Las diferencias más notables con la quinua radican en que las semillas del tarhui tienen un contenido de nitrógeno y fósforo muy superior, lo cual es de importancia para el manejo agronómico de la fertilidad de los suelos del Altiplano que, precisamente escasean en ambos elementos. Es interesante anotar que el antagonismo entre alcaloides y extracto etéreo se encuentra sustentado en todos los elementos estudiados que, para cada caso, dieron coeficientes de signo contrario.

Dada la importancia que tiene el conseguir variedades dulces de tarhui, conviene resaltar las correlaciones de los alcaloides con el calcio ( $r = 0.876$ ) y el potasio ( $r = -0.876$ ). La exploración de la influencia de los elementos químicos en la concentración de alcaloides podría ser una vía complementaria al campo genético en los esfuerzos por eliminar la presencia de dicho compuesto. Se anota también que  $R^2$  mostró una asociación positiva, (0.5 a 0.6) de los alcaloides con el aluminio, manganeso y zinc. Para las proteínas, con la excepción obvia del nitrógeno, no se encontró ninguna correlación de interés. En cambio,

en la concentración del extracto etéreo influyen negativamente el calcio ( $-0.778$ ) y el zinc ( $-0.748$ ).

Considerados los elementos entre si, correspondió al aluminio el mayor número de coeficientes significativos, 0.984 con Fe, 0.947 con Zn, 0.919 con Mn y  $-0.898$  con K. Es evidente que hace falta un mayor número de trabajos con gran cantidad de muestras, pero en principio podría recomendarse una atención preferente al papel que puedan jugar el aluminio y el calcio en los componentes orgánicos del tarhui.

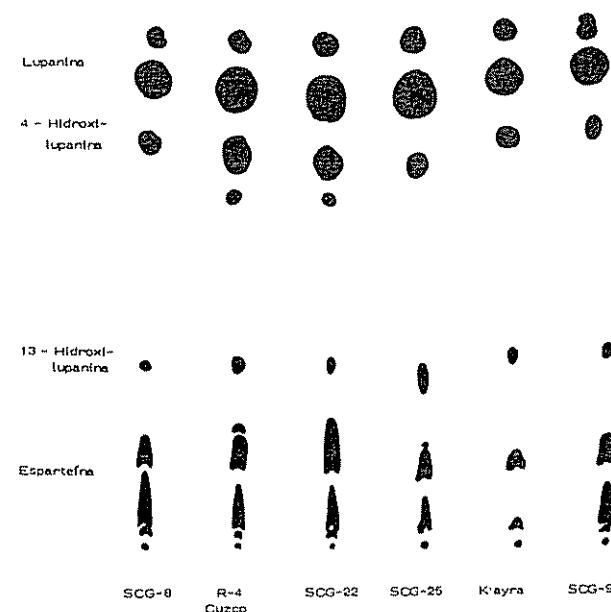


Fig. 1. Detección de alcaloides por cromatografía en capa fina, en las muestras estudiadas.

Cuadro 2. Cantidad de algunos elementos químicos presentes en la semilla de tarhui (base seca).

Elemento %	SCG-8	SCG-9	SCG-22	SCG-25	R-4 Cuzco	K'ayra	Promedios	Desv. Estándar
N	6.80	6.62	7.00	7.26	6.72	6.59	6.83	0.25
P	0.78	0.86	0.83	0.78	0.98	0.91	0.85	0.07
K	1.15	1.14	1.00	1.13	0.89	1.13	1.07	0.10
Ca	0.33	0.30	0.35	0.31	0.56	0.25	0.35	0.11
Mg	0.28	0.27	0.24	0.26	0.26	0.26	0.26	0.01
S	0.22	0.25	0.22	0.25	0.25	0.26	0.24	0.02
<hr/>								
ppm								
Cu	12	14	26	10	20	14	16	5.93
Fe	160	340	320	200	560	300	313	140.0
Mn	60	62	62	60	74	66	64	5.36
Zn	76	84	82	76	172	70	93	38.8
Al	20	80	80	40	200	60	80	63.2

## Resumen

El tarhui (*Lupinus mutabilis*) es una leguminosa nativa de los Andes Altos del Perú (2 500 a 4 500 m sobre el nivel del mar), con una capacidad apreciable para resistir las condiciones adversas de heladas, sequías y suelos pobres. Los resultados obtenidos en este trabajo confirman que el tarhui cosechado en Cuzco tiene un alto contenido proteinico (en promedio 42.7%) y de extracto etéreo (18.7% en promedio). El tarhui es una leguminosa de gusto amargo proporcionado por la presencia de alcaloides (0.92 a 1.36%), que precisan ser lavados antes que el tarhui pueda servir como alimento.

1º de junio de 1981

MARIO BLASCO LAMENCA\*  
DONATO R. HORQUE F \*\*  
JOAQUIN DE CABANYES\*\*\*

\* Especialista en Investigación Agrícola, IICA-Perú.  
Apartado 11 185 Lima-14, Perú

\*\* Investigador de la Estación Experimental del Cuzco,  
INIPA, CIAG-Sur

\*\*\* Jefe Departamento Bioquímica y Microbiología, INIA.  
Apartado 8 111, Madrid-35, España.

## Referencias

1. ANONIMO. Tarhui. In Tropical legumes: Resources for the future. Washington, National Academy of Sciences, 1979. pp. 86-92.
2. BLANCO, O. Investigaciones agrícolas en tarhui en la Universidad Nacional de Cuzco. In Gross R. y von Baer, E. ed. Proyecto de lupino. Informe n. 2. Lima, Institutos Nacionales de Salud, 1974. pp. 5-9.
3. BLASCO, M. Composición de la quinua cultivada en el Altiplano de Puno, Perú. Turrialba 29: 219-221. 1979.
4. CHAVEZ, E. y UNTIED, P. El programa de producción de lupino o chocho en la Sierra del Perú. Perspectivas y limitaciones. In Proyecto de cultivo y aprovechamiento de los lupinos. Lima, Instituto Nacional de Investigación Agraria, 1980. pp. 3-18.
5. GROSS, R. y von BAER, E. El lupino, una contribución a la nutrición en los Andes. Mikhuy (Perú) 2:18-21. 1976.
6. INSTITUTO INTERAMERICANO DE CIENCIAS AGRICOLAS. (Hoy: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura) Informe anual 1979. San José, 1979. 225 p.
7. OFICINA NACIONAL DE ESTADISTICA. Hoja balance de los alimentos. Lima, Ministerio de Agricultura, 1971. 41 p.

### Tree diameter increment in the subtropical moist life zone of Puerto Rico.

**Compendio.** El incremento periódico anual del DAP en un rodal, previamente entresacado, localizado en el bosque montano alto (bosque de "colorado") en el sudeste de Puerto Rico, creció a un promedio de 0.25 cm/año durante 27 años. El incremento a largo plazo era doble de cualquier otro registrado en otro bosque de "colorado" en la isla.

The Cubuy tract in the Caribbean National Forest was purchased in 1936. At that time, it was mostly farmland with some trees along steep streambanks. Farming continued on the tract until about 1950.

In 1937-40, *Tectona grandis*, *Swietenia macrophylla*, *Calophyllum calaba*, *Cordia alliodora*, and *Petitia domingensis* were planted, and in 1946, *Tabebuia heterophylla*. Plantations of these species and secondary forests cover the area today.

The Cubuy tract, ranging from 300 to 550 m in elevation, is the only portion of the Caribbean National Forest mapped within the Subtropical Moist Forest Life Zone (4). Mean annual rainfall, well distributed through the year, is 2 000 mm. Mean annual temperature is 19.5°C, and potential evapotranspiration is estimated at 1 150 mm/yr.

The soils on the Cubuy tract are shallow to moderately deep, well-drained Caguabo clay loams (1), derived from tuffaceous sandstone and lava (2). Puerto Rico contains 116 000 ha of shallow clay loams suitable for commercial timber production within the Subtropical Moist Forest Life Zone. More than 32 000 ha are currently reforested farmland similar to the study area.

The purpose of this study was to determine periodic annual DBH increment (PAI) over 16 years by species, crown class, and topographic position, and to compare the data with similar studies conducted elsewhere in the Luquillo Forest. All species listed in Figure 1 produce valuable timber suitable for furniture or construction (6). Knowledge of diameter growth is important for management of these stands.

### Methods

This study was pursued within the general framework of a pilot management project designed to increase timber production by eliminating species whose wood is currently not marketable and by thinning for select "crop trees" (3).

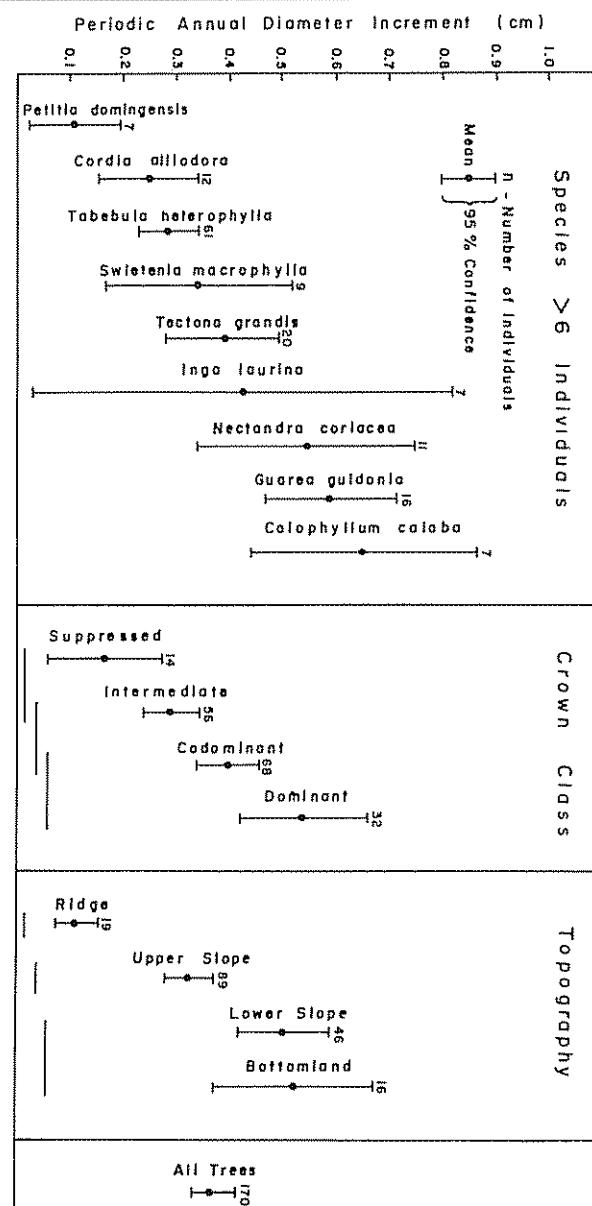


Fig. 1. Periodic annual diameter increment by species, crown class, and topography in the Cubuy tract of the Caribbean National Forest. Horizontal lines at bottom of chart connect means not significantly different according to multiple range tests (Tukey's Omega procedure; Steel and Torrie 1960).

In 1959, 100 circular 0.08 ha plots were established throughout the Cubuy tract. Topographic position (i. e. bottomland, lower slope, upper slope, ridge), species, DBH for crop trees  $\geq 9$  cm and crown class (dominant, codominant, intermediate, suppressed) were recorded for each plot. In 1975, 20 of the plots, selected by topography in the same proportion as the original 100, were surveyed again. Trees were located and remeasured.

PAIs were calculated for species with  $\geq 7$  individuals, for all trees, by crown class, and for each topographic position. Multiple range tests using Tukey's Omega procedure (7) were conducted by crown class and topographic position.

### Results and discussion

The PAI for all stems was 0.37 cm/yr (Figure 1), a value that closely approximates the 0.38-0.42 cm/yr range reported for all crop trees in nearby Subtropical Wet Forest (3).

The PAI by species ranges from a low of 0.11 cm/yr for *Petitia domingensis* through a high of 0.65 cm/yr for *Calophyllum calaba* (Figure 1). *Tabebuia heterophylla* appears to grow slowly throughout the Luquillo Forest, averaging 0.29 cm/yr in Cubuy, and ranging from 0.18 to 0.35 cm/yr elsewhere (3). *Guarea guidonia*, a large native Meliaceae with valuable timber, averaged 0.59 cm/yr in Cubuy, and 0.81 cm/yr elsewhere in the Luquillo Forest. *Inga laurina*, the remaining species for which comparative crop tree data area available, averaged 0.42 cm/yr in Cubuy and ranged from 0.43 to 0.58 cm/yr elsewhere in the forest.

Growth is positively correlated with an increase in crown dominance. PAI by crown class ranged from 0.54 cm/yr for dominants to 0.17 cm/yr for suppressed stems. Moreover, topographic position has a significant effect on PAI. Trees on ridges and upper slopes average 0.12 and 0.33 cm/yr, respectively, while trees on lower slopes and in bottomlands average 0.54 and 0.55 cm/yr (Figure 1). This is presumably due to greater soil depth and available moisture in lower topographic positions.

In comparison, typical PAIs in undisturbed stands in the Subtropical Wet Forest of the Luquillo mountains are only about 0.15 cm/yr (8); whereas in thinned stands PAIs average about 0.35 cm/yr (9).

In summary, it appears that the PAIs of crop trees in the thinned Cubuy tract are about equal to the PAIs of crop trees in thinned Subtropical Wet Forest. Differences in species composition and past land use, however, suggest a need for more detailed studies.

### Summary

Periodic annual diameter increment on a previously thinned small plot in upper montane forest ("colorado" forest) in southeastern Puerto Rico averaged 0.25 cm/yr over 27 years. Long-term incre-

ment was twice that recorded for other colorado forests on the island.

September 10, 1980.

RALPH SCHMIDT\*  
PETER L. WEAVER\*\*

\* Southern Forest Experiment Station, Institute of Tropical Forestry P. O. Box AQ. Río Piedras. PUERTO RICO.

\*\* Research forester at the Institute of Tropical Forestry, Río Piedras PUERTO RICO.

### Literature cited

- BOCCHECIAMP, R. A. Soil Survey of Humacao of Eastern Puerto Rico. U. S. Department of Agriculture Soil Conservation Service in cooperation with the U. P. R. College of Agricultural Sciences. 103 p. + tables. 1977.
- BRIGGS, R. P. and J. P. AKERS. Hydrologic map of Puerto Rico and adjacent islands. U. S. Department of the Interior Geologic Survey Hydrologic Investigations Atlas HA-197. Washington, D. C. 1965.
- CROW, T. R. and P. L. WEAVER. Tree growth in a moist tropical forest of Puerto Rico. U. S. Department of Agriculture Forest Service Research Paper ITF-22, 17 p. Institute of Tropical Forestry, Río Piedras, Puerto Rico. 1977.
- EWEL, J. J. and J. L. WHITMORE. The ecological life zones of Puerto Rico and the U. S. Virgin Islands. U. S. Department of Agriculture Forest Service Research Paper ITF-18, 72 p. Institute of Tropical Forestry, Río Piedras, Puerto Rico. 1973.
- HOLDRIDGE, L. R. Life Zone Ecology. Tropical Science Center, San José, Costa Rica. 1967. 206 p.
- LONGWOOD, F. R. Puerto Rican woods; their machining, seasoning, and related characteristics. U. S. Department of Agriculture Forest Service Handbook No. 205, 98 p. Government Printing Office, Washington, D. C. 1961.

7. STEEL, R. G. D. and J. H. TORRIE. Principles and Procedures of Statistics. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York, New York. 1960. 481 p.
8. WADSWORTH, F. H. Forest management in the Luquillo Mountains, I. The setting. Caribbean Forester 12:93-114. 1951.
9. WADSWORTH, F. H. Forest management in the Luquillo Mountains, III. Selection of products and silvicultural policies. Caribbean Forester 13:93-119. 1952.

#### Regulación química de la floración y fructificación en ajonjolí (*Sesamum indicum* L.).

**Abstract.** The object of this research was to increase the harvested seed in sesame (*Sesamum indicum* L.). Microscopical observations showed that seeds mature far before the capsules open so it is possible to fasten plant maturity without interrupting seed development.

Best results were obtained with the mixture of ethephon 25 ppm + paraquat 3%, both applied at "field harvest point" when plants begin to defoliate at the basis of branches. This treatment increased seed (weight) 40% over the control treatment because plants were harvested and threshed the same day, 4 days after treatment, instead of harvested and left to dry out in the field during 2 weeks after the traditional way. The treatment makes feasible the mechanical harvest of sesame.

Also folcistein (Ergostim) was tried. Applied at a 42% at budding and again 15 days later determined and increase in seed (weight) of 66% over the control treatment. This was due to a better flower setting as shown by counting flowers and fruits at several dates.

Una de las principales limitantes en la producción de semilla de ajonjolí es la desigual maduración y dehiscencia de las cápsulas que obliga a grandes insumos en la recolección y cosecha (10). Para evitar este problema se han intentado métodos culturales y genéticos (3, 11) pero se ha encontrado que la característica de cápsula indehiscente se asocia con otras características negativas que determinan bajo rendimiento y problemas en la cosecha mecánica (3).

La aplicación de fitorreguladores abre vías metodológicas para controlar el problema. En la maduración de los frutos juega un importante papel el etileno, que puede aplicarse en forma exógena como ethephon y que si bien se ha usado principalmente en la tecnología de frutos carnosos también tiene efectos en frutos secos como el del algodón (7, 8). Algunos desecantes como el paraquat también actúan sobre la maduración y se han usado en cultivos diversos incluso oleaginosos como girasol y colza (11).

Una manera indirecta pero efectiva de reducir pérdidas en la cosecha consiste en promover una mayor floración o bien evitar la caída de flores o frutillos. A este respecto se han probado muchos fitorreguladores. Uno de los más nuevos es la folcisteína que ha mostrado eficiencia (1, 9) pero de la cual aún falta experimentación más amplia tanto básica como tecnológica.

#### Materiales y métodos

La investigación se llevó a cabo en los laboratorios y en el Campo Agrícola Experimental del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey (México) del 1º de junio de 1979 al 20 de agosto de 1980. El objetivo básico fue aumentar el rendimiento de semilla cosechada en ajonjolí. Para ello se efectuó: 1) Un análisis del proceso de maduración del fruto, 2) un experimento sobre el efecto del ethephon (ácido 2, cloretil fosfónico) producto que actúa sobre la maduración liberando etileno en el interior de la planta, y del paraquat (1,1 dimetil-4,4 dicloruro (cation) de dipiridilio) producto desecante por oxidación de los tejidos vegetales, 3) un experimento sobre el efecto de la folcisteína (Ergostim) (derivado del ácido tiazolidin-4 carboxílico) bioestimulante de reciente aparición. En todos los experimentos se usó ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) cv. Moreliano de hábito indefinido, porte alto y muy ramificado.

#### Análisis de la maduración del fruto y semilla

#### Metodología

Se tomaron 30 plantas al inicio de la floración; cada 5 días se tomaron 3 cápsulas de cada planta: una típica del tercio inferior, otra del tercio medio y otra del tercio superior. Las cápsulas se observaron al microscopio de disección para ver la formación de la semilla y de las líneas de dehiscencia. A los 10, 20 y 30 días del desarrollo se tomaron cápsulas para seccionarse en micrótomo rotatorio y observarse al microscopio óptico teñidas con safranina-verde rápido; otras se trataron con floroglucina y HCl 25% que tiñe selectivamente la lignina.

### Resultados y discusión

En el microscopio de disección se observó que a los 10 días del inicio de la formación del fruto la semilla es ya perfectamente identificable y las cápsulas han desarrollado membranas gruesas en la línea media de los carpelos. A los 20 días se empieza a formar junto al endocarpio una hilera de células lignificadas a cada lado de la sutura carpelar. Este proceso de lignificación avanza hasta hacer contacto con el epicarpio formándose las líneas de dehiscencia; al irse formando éstas, las células adyacentes pierden agua y colapsan ejerciendo una tensión sobre las suturas que terminan por romperse separándose los carpelos. La apertura ocurre del extremo distal hacia la base de la cápsula habiendo un gradiente de lignificación que se inicia en el ápice y va procediendo hacia la base donde es poco evidente.

La semilla llega a su completo desarrollo morfológico a los 35 días del inicio del fruto y 5 días más tarde éste alcanza su máximo crecimiento. A partir de aquí se pierde toda sincronía entre el desarrollo del fruto y la semilla pues aunque ésta se encuentra perfectamente formada y el fruto ya no crece, permanece verde y la dehiscencia se presenta hasta 20 días después, a los 55 días de la iniciación de las cápsulas.

### Efecto del Ethepron y Paraquat en la maduración del fruto

#### Experimento preliminar

##### a. Metodología

Con objeto de determinar la mejor fecha de aplicación de los fitorreguladores se efectuó un experimento preliminar en terrenos del Campus del Instituto Tecnológico. La parcela experimental fue un surco de 4 m (60 plantas) por tratamiento. Los productos se aplicaron en dos fechas: al punto de corte (pc) y 6 días después del punto de corte (ddpc). (Se denomina "punto de corte" al estado fisiológico en que se corta la planta en la práctica agrícola que es cuando detiene su crecimiento y aparece clorosis iniciándose la defoliación en la parte basal de las ramas).

Los tratamientos fueron: 1) paraquat 3% (6 ddpc); 2) ethephon 25 ppm (pc); 3) ethephon 25 ppm (6 ddpc); 4) ethephon 25 ppm + paraquat 3% (pc); 5) ethephon 25 ppm + paraquat 3% (6 ddpc); 6) Testigo. A partir de la aplicación se tomó el porcentaje de apertura de las cápsulas cada 3 días en 30 plantas por tratamiento.

##### b. Resultados Experimentales

Los efectos más conspicuos se tuvieron con paraquat sólo o adicionado con ethephon donde no hubo correlación entre los días transcurridos y el porcentaje de apertura lo que significa que el tratamiento nulificó el proceso normal de lignificación y dehiscencia; en cambio en el testigo y tratamientos con ethephon solo, sí hubo correlación entre tiempo transcurrido y porcentaje de apertura. El ethephon solo, alargó mucho el tiempo para dehiscencia pues cuando ya era total en el Testigo en dichos tratamientos llegaba al 50%.

Este experimento llevó a la conclusión de que, siendo similar la respuesta, sea que se aplique el producto al tiempo de corte ó 6 días más tarde, es más práctico aplicar al punto de corte para apresurar la cosecha.

### Experimento definitivo

##### a. Metodología

Con base en el experimento preliminar se estableció otro en el Campo Agrícola Experimental bajo un diseño de bloques al azar con 4 repeticiones, teniendo cada parcela 5 surcos de 4 m a separación de 90 cm con 100 plantas/parcela (parcela útil = 45 plantas). Los tratamientos fueron: 1) ethephon 25 ppm; 2) ethephon 50 ppm; 3) ethephon 75 ppm; 4) ethephon 25 ppm + paraquat 3%; 5) paraquat 3%; 6) Testigo. Todos se aplicaron al punto de corte. Los tratamientos sin paraquat (1, 2, 3 y 6) se cosecharon a la manera tradicional dejándose secar en el campo antes de trillar; los tratamientos con paraquat (4, 5) fueron cosechados y trillados el mismo día, a los 5 de la aplicación. Se pesó la semilla y se observaron otras características.

##### b. Resultados Experimentales

El paraquat solo o en combinación con ethephon disminuyó el ciclo vegetativo en 20 a 22 días comparado con el testigo; el ethephon solo, retardó la maduración. Se observó que el tratamiento con paraquat solo, determinó un elevado porcentaje de apertura a los 2 días de aplicado; cuando el paraquat se acompañó de ethephon el efecto fue menos drástico. Como en el experimento preliminar, los tratamientos con paraquat no mostraron correlación entre días transcurridos y porcentaje de dehiscencia o sea que el paraquat nulifica la maduración normal.

En el Cuadro 1 se presentan las características vegetativas y reproductivas principales estudiadas. El rendimiento de las plantas tratadas con ethephon + paraquat fue superior a los demás (Duncan 0.05) y la calidad de la semilla no fue afectada. Los resultados demuestran que el paraquat solo, tiene efectos traumáticos y el rendimiento es casi igual al testigo aunque no ocurra pérdida de semilla en el campo, pero con la adición de ethephon el proceso es normal y el rendimiento supera al testigo en 40% determinándose además gran ahorro al poder cosechar y trillar simultáneamente. La Figura 1 compara los efectos del ethephon + paraquat con el testigo.

#### Efecto de la Folcisteína (Ergostim) en el proceso de floración

#### Metodología

Se efectuó un experimento para observar los efectos de la folcisteína en la floración del ajonjoli en el Campo Agrícola Experimental. Cada tratamiento constó de un surco de 4 m con 3 repeticiones (20 plantas/parcela; 60 plantas/tratamiento). Los tratamientos fueron: 1) folcisteína 42% al iniciarse la floración y 15 días después; 2) folcisteína 42% al inicio de la floración y 84% 15 días después; 3) Testigo. Se realizaron recuentos de flores y frutos al iniciarse la floración (1a. aplicación), a los 7 días, a los 15 días (2a. aplicación) y a la cosecha. La cosecha se realizó en la forma tradicional cortando en punto de corte, apilando la planta en el campo ("monos") y trillando a los 42 días de la 2a. aplicación.

#### Resultados Experimentales

Los resultados se concentran en el Cuadro 2 y muestran que el número de flores fue mayor en

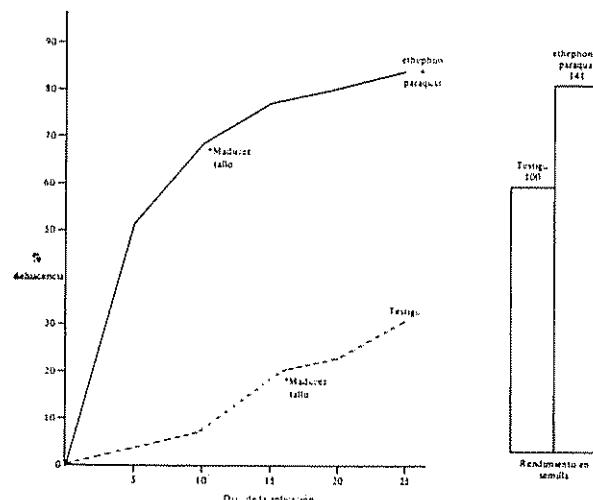


Fig. 1 Efecto de ethephon (25 ppm) y paraquat (3%) en la dehesencia, maduración y rendimiento del ajonjoli (*Sesamum indicum*). Aplicación en "punto de corte" (inicio de defoliación)

las plantas que recibieron folcisteína 42% + 42%. Sin embargo, el mayor número de cápsulas en este tratamiento se debió primordialmente a que el producto determinó una mayor retención de las flores como se advierte claramente en la Figura 2. El resultado fue un aumento de 66% en la semilla cosechada.

#### Resumen

En el ajonjoli maduran las semillas mucho antes que lo hagan los frutos, como ocurre en muchas leguminosas (10) por lo que es posible teóricamente apresurar la maduración de la planta sin afectar la calidad de la semilla.

A este respecto los mejores resultados se tuvieron con (ethephon 25 ppm + paraquat 3%) aplicado en punto de corte. Paraquat solo, determina efectos traumáticos y la semilla cosechada es igual que en el

Cuadro 1. Efecto del ethephon y paraquat aplicados en punto de corte a plantas de ajonjoli (*Sesamum indicum*) cv. Moreliano.

	Ethepron (ppm)		Ethepron 25 ppm + paraquat 3%	Paraquat 3%	Testigo
	25	50	75		
Días de la aplicación a la madurez	20	21	20	6	4
Rendimiento kg/ha:	996.5	885.5	968.5	1 517.5	1 114.5
% al Testigo:	92.57	82.26	89.96	140.96	103.5
Peso de 1 000 semillas (g):	3.66	3.65	3.85	3.67	3.90
Volumen de 1 000 semillas (cm³):	4.7	4.9	4.4	5.1	5.3
Densidad de 100 semillas:	0.77	0.74	0.87	0.72	0.73

Cuadro 2. Efecto de la folcisteína aplicada al inicio de la floración en ajonjoli (*Sesamum indicum*) cv. Moreliano.

Tratamiento		Botón (1a. aplicación)	7 días Después	15 días después (2a. aplicación)	A la Cosecha
Folcisteína 42% + 42%	Número de flores	11	14	17	8
	Número de cápsulas	12	24	39	62
	Altura (cm)	67	86	94	114
	Rendimiento semilla (kg/ha)				1 246
Folcisteína 42% + 84%	Número de flores	12	10	8	9
	Número de cápsulas	8	15	23	31
	Altura (cm)	60	76	90	95
	Rendimiento semilla (kg/ha)				862
Testigo	Número de flores	11	13	10	8
	Número de cápsulas	9	25	27	32
	Altura (cm)	65	76	85	93
	Rendimiento semilla (kg/ha)				748

testigo aunque no ocurre pérdida en el campo; ethephon solo, retarda la maduración; la mezcla ethephon + paraquat determinó un aumento de 40% en la semilla cosechada y una anticipación de 15 días en la cosecha con respecto al testigo. Los efectos metabólicos del ethephon sobre las enzimas y contenido clorofílico se acompañan por interacción con las auxinas (4) determinando fenómenos de abscisión. El paraquat actúa como un agente liberador de  $H_2O_2$  que deseca bruscamente los tejidos (2); sin

embargo, se ha comprobado que la aplicación de defoliantes solos, o con ethephon, inducen una mayor producción de etileno aún como respuesta independiente al defoliante (5).

La aplicación de folcisteína no tuvo ningún efecto sobre el proceso de maduración pero sí lo tuvo, y muy notable, en el de floración; aplicada al inicio de la floración al 42% y repitiendo esta aplicación 15 días después aumentó el rendimiento en 66% con respecto al testigo. Este aumento no es atribuible a la mayor o menor pérdida de semilla en el campo, sino a un aumento en la retención de las flores por la planta. La folcisteína es un producto bioactivo que aumenta la actividad enzimática principalmente en los procesos de respiración y síntesis clorofílica; ha sido probado en diversas especies cultivadas (1, 9) pero su acción básica no está bien determinada (6).

23 de enero de 1981.

R. SALINAS\*  
M. ROJAS GARCIDUEÑAS\*\*

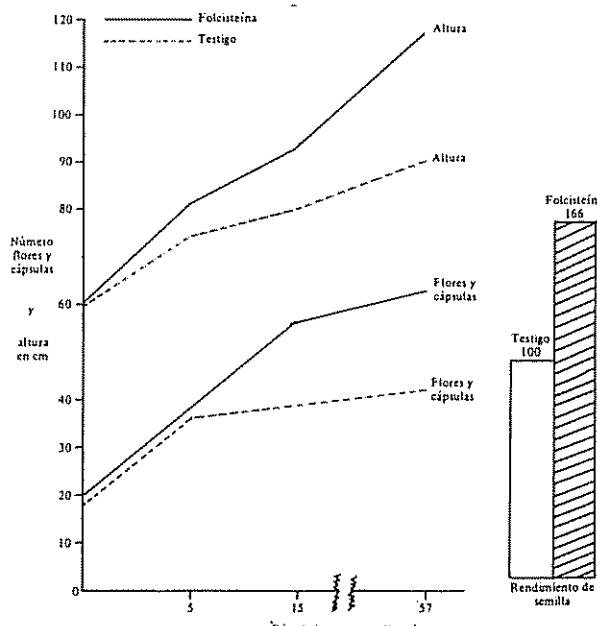


Fig. 2 Efecto de la folcisteína (42% + 42%) en el número (acumulativo) de flores + cápsulas, en la altura y en el rendimiento del ajonjoli (*Sesamum indicum*).

\* Estudiante graduado.

\*\* Profesor titular, Depto de Biología, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores Sucursal de Correos J. Montenegro, México.

## Bibliografía

1. ABDEL-RAHMAN, M. Responses of field corn and sweet corn to treatments with several growth biostimulants. Proceed. Pl. Growth Reg. Work Group 5th Annual Meet. (1978). Longmont, Colorado. In: Plant Growth Regulator Abstracts 5:(1 744). 1979.
2. BOON, W. R. Los aspectos químicos y modo de acción de los herbicidas dipiridilos diquat y paraquat: Servicio de Información "Plant Protection" ICI. México. 1971.
3. LANGHAM, D. G. Genetics of sesame "Open Sesame" and mottled leaf Instituto Experimental Agrícola Zootécnica Caracas, Venezuela. 1943.
4. MORGAN, P. W. Ethylene as a plant hormone. Conferencia 2a. Reunión sobre Reguladores del Desarrollo de Plantas e Insectos (mimeo. no publ.) mayo 29-30 (1980). Monterrey, México. 1980.
5. MORGAN, P. W. y H. W. GAUMAN. Effects of ethylene on auxin transport. Plant Physiology 41:45-52. 1966.
6. MONTEDISON. S. Ergostim, bioestimulante para cultivos agrícolas (Trad. italiano). Informazione Tecniche Montedison. Sin fecha.
7. MUTTON, L. L. Environment effects on the ripening response of tomatoes to ethephon. Abst. 1738 Agricultural Research Centre, Yanco (Australia). In: Plant Growth Regulator Abstracts 6:(241). 1980.
8. ONKAR, S. y O. S. SINGH. Response of cotton varieties to exogenous applications of etherel. Cotton Development 7:15-17 (India). In: Plant Growth Regulator Abstracts 5:(1 155). 1977.
9. OPLINGER, E. S., ANDERSON, I. R. y JOHNSON, R. R. Effect of seed on foliar applications of Ergostim on soybean and corn. Proceeding Plant Growth Regional Work Group. 5th. Annual Meet. (1978) Longmont, Colorado. 1979.
10. ROBLES, S. R. Producción de Oleaginosas y Textiles. Limusa. México. 1980.
11. SANDERSON, J. F. Preharvest desication of oilseed crops. Outlook Agriculture 9:121-125. 1976.

**Investigations into the control of the Kola stem borer *Phosphorus virescens* Oliver (Cerambycidae: coleoptera) in Western Nigeria.**

**Sumario.** Los estudios de campo y laboratorio con inyectores hechos con latas de aceite como aplicadores de insecticida, mostraron que el barrenador del tallo de la Kola (*Phosphorus* sp.) puede ser controlado con éxito mediante la aplicación de Gammalin 20 E.C. (20% BHC Gamma), 0.25% i.a., a los hoyos barrenados por los insectos.

*Theobroma cacao*, L. *Cola acuminata* Vent. Scotch & Endl. and *C. nitida* Vent. Scotch & Endl., all Sterculiaceae, are cash crops that have branches big enough to harbour stem borers of one of the major pests of tree crops. The borers so far identified include *Tragocephala nobilis*, *Tragocephala castnia* mainly on cocoa, *Phosphorus virescens*, *Phosphorus gabonator* and *Phosphorus virescens* var. *jansoni* mainly on kola. *Phosphorus* sp. which is the main species discussed in this work occurs throughout the kola producing regions of Nigeria. The insect attacks all ages of kola trees. The effect on young trees is particularly devastating, resulting in severe stunting, malformation and often death of the plants. This makes the establishment of new kola groves very difficult (4).

Cultural control methods such as poking of the insects in the tunnel with long wires, cutting off and either removal or burning of the cut stems as well as squashing and killing adult insects have been advocated (3). Insecticidal control has also been tried. Squire and Iwenjora (3) sprayed whole plants with Rogor 40 and obtained about 54% mortality of the larvae when infected branches were later dissected. In another laboratory trial at Umudike, they found that 113.40 gm of Sevin in 27.30 litres of water applied as a drenching spray seemed promising in controlling the pest. They suggested that this insecticide was worth further field trials. Ojo (1) reported less than 50% larval mortality due to the application of each of the insecticides: Lannate 20 E. C., Gammalin 20 E. C. and Nuvacron 50 E. C. when sprayed to drench infected trees at Kate in Oyo State, using pneumatic knapsack sprayers.

In this experiment, control measures using special insecticide applicators were investigated on newly and long established kola trees threatened by the pests.

#### Materials and Methods

An insecticide Gammalin 20 E. C. (20% Gamma BHC) which had long been in use by farmers, mostly on cocoa, was used in the test, compared with Sevin

(Sevin 85) W. P., and suggested for further trials by Squire and Iwenjora (3). Disposable syringe and needles as well as oil can injectors (Plate 1) were used as spray applicators for laboratory and field experiments carried out from 1979 to 1980.

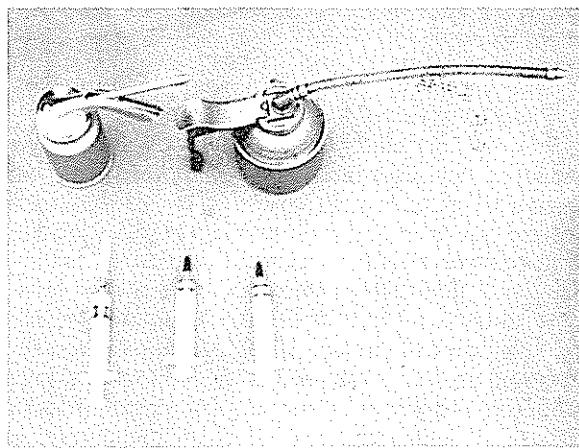


Fig. 1. Oil can injector and syringe and needle

Larvae extracted from kola branches were placed in petri-dishes containing filter papers impregnated with 0.25% a.i. of the insecticides. Mortality was recorded after 24 hours. The persistence of the insecticide was tested by observing larval mortality on filter papers which had been impregnated with the insecticide and used immediately or dried for 5 days before use. Kola branches with larval infestation were cut from the field, brought to the laboratory and insecticide applied into the uppermost hole on the branch until there was a run off in the basal holes. The branches were sliced open after 5 days to record larval mortality as it occurred in treated and untreated branches.

#### Field Test

A kola plot at Ifo Pilot Project and another at Sagamu, both in Ogun State were used during the two years experimentation. With the aid of oil can injectors, syringe and needles (Figures 2 and 3) insecticide formulations were injected into the infested branches. Aluminium ladders were used to gain access to infested branches on tall trees. Larval mortality was assessed by cutting and opening kola branches at 5 days after application of the insecticides.

#### Results

Table 1 shows that Gammalin 20 caused more mortality of the larvae placed on petridishes



Fig. 2 Applying insecticide to kola stem using an oil can injector.



Fig. 3 Applying insecticide to a kola stem using syringe and needle.

Table 1. Larval mortality on insecticide impregnated filter paper.

Insecticide	No. treated	No. dead after 24 hrs	% Mortality
Gammalin 20 E.C. (0.25%)	8	8	100
Sevin 85 W.P. (0.25%)	8	5	63.5
Control	8	0	0 %

impregnated with insecticide at various occasions. The fumigant action of Gammalin 20 seemed to be very efficient as larvae writhed vigorously before dying. Larvae were observed to die within 24 hours when placed on filter papers even after 5 days of impregnation with Gammalin 20 whereas those larvae placed on petridishes treated with Sevin writhed and many of them did not finally die after 24 hours. Those on control (untreated) filter papers did not die at all. On every occasion, Gammalin 20 recorded a mean of 100% insect mortality while Sevin 85 recorded 45.5%.

When the insecticides were applied into the branches, under laboratory conditions, the efficiency was more in favour of Gammalin 20 than of Sevin W. P. (Table 2). The mean percent mortality due to Gammalin 20 in this experiment was also 100% while Sevin W. P. recorded a mean mortality of 76%.

Field application using oil can injector on younger trees showed that Gammalin 20 was more effective than Sevin W. P. in insect mortality. There was no mortality of insects on control unsprayed branches (Table 3). The foliage on plants treated with insecticides at both Sagamu and Ifo were observed to rejuvenate later.

### Discussion

When branches were cut, only one insect per branch always existed and it bored the holes down the branch before pupating and later emerging. It was observed that insects died as soon as they probably came in contact with Gammalin 20. Treatment with the same concentrations of Sevin 85 W. P. did not cause as much death of the insects as Gammalin 20.

Table 2. Insect mortality in kola branches treated under laboratory condition.

Insecticide	No. treated	No. dead after 5 days	% Mortality
Gammalin 20 E.C. (0.25%)	20	20	100
Sevin 85 W.P. (0.25%)	21	16	76.6
Control	18	1	8

Total of three occasions.

There were more chances of blocking the syringe and oil can injector with Sevin W. P. than with Gammalin 20 E. C.

Farmers have been used to spraying Gammalin 20 on cocoa against attendant pests for the past 20 years and residual tests on cocoa have shown that it is relatively safe to handle. Farmers would therefore need no further training in the preparation and handling of Gammalin 20 E. C. The contact, fumigant and stomach activities of Gammalin 20 E. C. probably increased its activity over Sevin W. P. most especially with the method of application, i.e. using oil can injector.

The applicator used in the field could be obtained locally and at various low prices. Squire and Iwenjora (3) had commented that folial spray application is difficult during the rainy seasons. If control is directed against the larval stages using the oil can injector, damage would be stopped as opposed to being minimised by applying folial sprays against the adult beetles (2; 4). The oil can injector method is precise

Table 3. Larval insect mortality in kola branches treated in the field using oil can injector.

Insecticide	No. treated	No. dead after 5 days	% Mortality
Gammalin 20 E.C. (0.25%)	10	9	100
Sevin 85 W.P. (0.25%)	10	6	80
Control	8	0	0

Total of two occasions.

and would reduce the amount of insecticide used when compared with other methods of application including folial spray, dusting and painting. The method is also one that can be applied in any season (rainy or dry) to obtain maximum efficiency as the insecticide goes directly into the tunnel. It is however limited to heights within reach but can be aided by the use of ladders. Since the devastating effect of the borer is more on younger plants than the very old ones, control at the stage of establishment is needed and can be carried out effectively using the methods described above.

### Summary

Laboratory and field studies with oil can injectors as insecticide applicator have shown that kola stem borers *Phosphorus* sp. can be successfully controlled by the application of 0.25% a.i. Gammalin 20 E.C. (20% Gamma BHC) to the holes bored by the insects.

### Acknowledgements

I am grateful to the Director for permission to publish this paper and the staff of Entomology Division for assistance in carrying out the operations.

July 14, 1981.

AKINWALE A. OJO\*

\* Cocoa Research Institute P. M. B. 5244 Ibadan, Nigeria.

### References

1. OJO, AKINWALE A. Insecticide control of kola stem borers *Phosphorus verescens* Olivier. Cerambycidae Crin Annual Report 1977/78
2. PUJOL, R. Characoma nuisibles aux noix de kola. *Cafe cacao The* (VI) 2:105-114. 1962.
3. SQUIRE, F. A. and IWENJORA, F. O. On the kola tree borer in Nigeria *Phosphorus virescens* (Olivier) Lamidae. Federal Department Agricultural Research Ib. Memo 49:17 p. 1963.
4. GERARD, B. M. Stem borers *Phosphorus virescens* Crin Annual Report 1967 — 68, 28. 1968

### Nitrate reduction in some tropical grasses in their natural environment.

**Sumario.** Diecisiete especies de pastos y otras nueve monocotiledóneas que crecían en su medio ambiente natural fueron sometidas a ensayo respecto a la actividad de nitrato-reductasa utilizando dos métodos en vivo. El método de infiltración al vacío dio valores más elevados en 19 especies que el método Jaworski. El significado y posibles aplicaciones de las técnicas de la prueba nitrato-reductasa para trabajos en pastizales son presentados en la presente comunicación.

Reduction of nitrate to nitrite by nitrate reductase is the rate limiting step in the overall reduction of nitrate to ammonia in plants (3). Some workers have made correlations between nitrate reductase activity and grain yield potential of a grass crop (1) and total dry weight accumulation in ryegrass. Hageman *et al* (6) suggested that estimation of nitrate reductase in seedlings was a useful approach in the screening of species in breeding programmes where protein yield was the objective. A similar approach (using a biochemical tool) in the assessment of nitrogen requirements is just as valid in the management of other ecological systems especially in grassland ecosystems. The object of this study was to develop a method for assessing the plant nitrate status by NRA assay. The NRA obtained in two *in vivo* assay methods were compared in seventeen grass species and nine other monocotyledons growing in their natural environments. The methods were chosen for their simplicity, relative inexpensiveness and suitability for assaying numerous samples.

### Materials and Methods

Seventeen grass species and nine non-grass monocotyledons growing in their natural environment on the University of Ife Campus, Ile-Ife, Nigeria were used in this study. Leaves were harvested and chopped into large pieces about 1.5 cm squared and 0.5 g of tissue was used for each assay. NRA was determined by methods based on the *in vivo* assays of Jaworski (8) using propanol and Klepper *et al* (10) using vacuum infiltration. Modifications were made to standardize some of the common basis of both methods e. g. weight of tissue 0.5 g; incubating medium 5.0 ml in 25 ml screw cap bottles; concentration of reagents (0.1 M phosphate buffer pH 7.5, 0.05 M  $\text{KNO}_3$ ). For the vacuum infiltration technique, propanol (5 %) was excluded. Samples were vacuum infiltrated twice for 5-10 minutes each time by placing the bottles in a vacuum dessicator and connecting it to a vacuum line. Samples were incubated

Abbreviation: NRA Nitrate reductase activity

at room temperature. In both methods, samples were assayed at 0, then 30, 40 and 50 minutes after incubation – the means of the 30, 40 and 50 minutes reading were used to estimate the nitrate reductase activity.

### Results and Discussion

The results from this study (Table I) show that of the two *in vivo* methods, the infiltration technique on the average gave higher values than the Jarworski method. In close comparison these values were between 1½ – 4 times higher for *Pennisetum* sp., *Rottboellia*, *Setaria*, *Cynodon* sp., *Sporobolus*, *Digitaria*, *Leptochloa*, *Axopus*, *Cympopogon*, *Bambusa*, *Rheo*, *Roystenea*, *Hyphaena* and *Commelina*; 6, 10, 14 and 18 times higher for *Imperata*, *Pandanus*,

Table I. Comparison of Nitrate Reductase Activity of two *in vivo* assays in different Grass and Monocotyledon Species:  $\mu\text{g NO}_2^-$  formed ( $\text{g fr. wt})^{-1} \text{ hr}^{-1}$

Grasses	Jarworski	Infiltration
<i>Panicum maximum</i>	1.89	26.72
<i>Pennisetum subagutrum</i>	1.29	6.79
<i>Rottboellia exaltata</i>	8.91	32.31
<i>Andropogon tectorium</i>	2.61	0.86
<i>Setaria longiseta</i>	2.70	6.30
<i>Pennisetum purpureum</i>	10.89	45.00
<i>Paspalum conjugatum</i>	12.9	12.09
<i>Cynodon plectostachyus</i>	2.19	3.60
<i>Cynodon dactylon</i>	3.00	4.50
<i>Sporobolus pyramidis</i>	3.30	4.89
<i>Paspalum orbiculare</i>	2.31	4.50
<i>Imperata cylindrica</i>	0.30	1.80
<i>Digitaria horizontalis</i>	5.31	10.50
<i>Leptochloa uniflora</i>	1.50	3.69
<i>Marantochloa purpurea</i>	3.60	0.81
<i>Axopus compressus</i> (Carpet grass)	4.89	9.30
<i>Cympopogon citratus</i> (Lemon grass)	3.21	5.19
<i>Bambusa vulgaris</i> (bamboo)	5.91	8.10
<b>Other Monocots</b>		
<i>Elaeis guineensis</i> (oil palm tree)	1.89	2.40
<i>Musa sapientum</i> (plantain)	5.28	2.10
<i>Thaumatococcus danielli</i>	0.51	9.39
<i>Agave sisalana</i> (ornamental sisal)	0.96	1.20
<i>Rheo discolor</i>	1.59	3.60
<i>Roystenea borinquena</i> (Royal palm)	0.90	2.79
<i>Hyphaena thebaica</i>	1.71	5.79
<i>Commelina diffusa</i>	3.39	6.60
<i>Pandanus sanderi</i>	0.09	0.90

*Panicum* and *Thaumatococcus* respectively; the values were approximately equal in *Elaeis*, *Paspalum* and *Agave*; while the Jarworski method gave higher values for *Andropogon* (3x) *Marantochoa* (4x) and *Musa* (2x). Results from laboratory grown plants are usually higher than the above which were growing in their natural environment. However, such laboratory results should be viewed as artificial as even field soils heavily fertilized with nitrogen never attain as high a flux as in the laboratory experiments.

It is now generally accepted that NRA is the rate limiting step in nitrate reduction and therefore plays a major role in the regulation of protein production. Shaner and Boyer (11, 12) reported that in maize seedlings having adequate water supply, extractable NRA is regulated by the nitrate flux from the roots to the shoots rather than by the nitrate content of the leaves. Their work (12) implies that at low water potential the NRA response to the flux of nitrate is controlled by transpiration and root uptake effects. Similarly in tobacco callus cells NRA induction is more closely related to the nitrate entering the cells than to that stored within the cells (7). Finally, when all other environmental conditions are constant, NRA is inducible by flux (9). Brunetti and Hageman (5) report that the *in vivo* assay provided the closest approximation of the actual amount of N accumulated in wheat seedlings. As there is a close correlation between the NRA of a leaf and the nitrate status of the solution (soil) in which the plant grows (12), determination of NRA in leaves would be a rapid means of assessing the status of nitrate availability in soils. Protein production through dry matter accumulation is the goal in tropical savannah grassland and natural ecosystem management. In these, the use of NR-assay techniques which serve as a means of evaluating the cycling of nitrate nitrogen should be an integral part of the management of these systems.

Ongoing research in this laboratory will use these methods to establish a relationship between the NRA, nitrate status of the leaves of grasses and the soil nitrogen levels in the savannah region of Nigeria.

### Summary

Seventeen grass species and nine other monocotyledonous plantas growing in their natural environment were assayed for nitrate reductase activity using two *in vivo* methods. The vacuum infiltration method gave higher values than the Jaworski method in 19 species. The implications and possible

Abbreviation: NR Nitrate reductase

applications of nitrate reductase assay techniques in grassland work is discussed.

August 10, 1981.

A. C. ADEBONA\*

A. O. ALLI\*

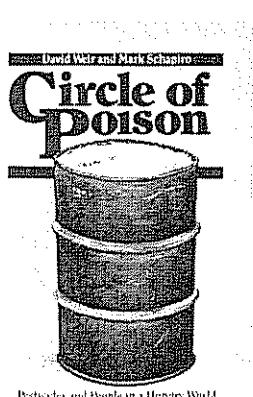
\* Department of Botany University of IFE ILE-IFE, Nigeria.

#### References

1. BAR-AKIVA, A., SAGIV, J. and LESHEM, J. Nitrate reductase as an indicator for assessing nitrogen requirement of grass crop. Journal of the Science Food Agriculture 21:405-407. 1970.
2. BEEVERS, L., SCHARADER, L. E., FLESHER, D. and HAGEMAN, R. H. The role of light and nitrate in the induction of nitrate reductase in radish cotyledons and maize seedlings. Plant Physiology 40:691-698. 1965.
3. BEEVERS, L. and HAGEMAN, R. L. Nitrate reduction in Higher plants. Annual Review of Plant Physiology 20:495-522. 1969.
4. BOWERMAN, A. and GOODMAN, P. J. Variation of nitrate reductase in *Lolium*. Annals of Botany 35:353-366. 1971.
5. BRUNETTI, N. and HAGEMAN, R. H. Comparison of *in vivo* and *in vitro* assays of nitrate reductase in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. Plant Physiology 58: 583-587. 1976.
6. HAGEMAN, R. H., LENG, E. R. and DUDLEY, J. W. A biochemical approach to corn breeding. Advances in Agronomy 19:45-86. 1967.
7. HEIMER, Y. M. and FILNER, P. Regulation of the nitrate assimilation pathway in cultured tobacco cells III. The nitrate uptake system. Biochemical Biophysical Acta 230:362-372. 1971.
8. JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. Biochemistry Biophysics Research Communication 43:1 274-1 279. 1971.
9. KAPLAN, D., ROTH-BEJERAND, N. and LIPS, H. Nitrate reductase as a product inducible enzyme. European Journal of Biochemistry 49:393-398. 1974.
10. KLEPPER, L., FLESHER, D. and HAGEMAN, R. G. Generation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide for nitrate reduction in green leaves. Plant Physiology 48:580-590. 1971.
11. SHANDER, D. L. and BOYER, J. S. Nitrate reductase activity in maize (*Zea mays* L.) seedlings. I. Regulation by nitrate flux. Plant Physiology 58:499-504. 1976(a).
12. SHANDER, D. L. and BOYER, J. S. Nitrate reductase activity in maize (*Zea mays* L.) seedlings. II. Regulation by nitrate flux at low leaf water potential. Plant Physiology 58:505-509. 1976(b).

## RESEÑA DE LIBROS

WEIR, DAVID and SCHAPIRO, MARK. *Circle of Poison: Pesticides and People in a Hungry World.* Institute for Food and Development Policy, 2588 Mission Street, San Francisco, California 94110. 1981. 100 pp. \$3.95. Este libro también está publicado en español.



Circle of Poison (Círculo de Veneno) es la culminación de una investigación periodística que descubrió, siguió y expuso la exportación de productos peligrosos por parte de los países industrializados, especialmente los Estados Unidos, a los países del Tercer Mundo. El estudio, cuyo desarrollo cubrió una década de esfuerzos, provocó una reacción explosiva en los Estados Unidos y en otros países, y tuvo un impacto mundial tanto, que la Organización de las Naciones Unidas (ONU) aprobó una resolución sobre exportaciones peligrosas y varios países del Tercer Mundo adoptaron nuevas regulaciones sobre los plaguicidas.

El libro enumera y describe los efectos de algunos de los plaguicidas más peligrosos que se están exportando al Tercer Mundo, productos que fueron prohibidos o sometidos a restricciones severas en sus países de origen. Indica cuáles son las corporaciones que los producen y exportan, y explican los pasos tomados por las corporaciones y los gobiernos para evadir restricciones nacionales e internacionales sobre estos productos, y qué mecanismos son usados para mantener el flujo de estos productos peligrosos a países no muy bien preparados para regular su uso, sobre los cuales los autores sugieren que pueden ser calificados como de "tecnología inapropiada".

Los investigadores hicieron un estudio profundo del problema, usando información que recolectaron para mostrar otra cara del modelo usado en el mundo industrializado y no-socialista para ayudar a "desarrollar" el mundo en desarrollo.

En primer lugar, *Circle of Poison* rechaza el argumento de que "los pesticidas son necesarios para luchar contra el hambre que existe en el mundo." Muestra que la mayor parte de éstos son aplicados a cultivos de lujo y de exportación, y no en la producción de alimentos básicos para consumo interno. La obra indica que los profesionales que trabajan en el campo del desarrollo están conscientes de que las condiciones de los pobres realmente están empeorando, y que desde los años 50, la tasa de crecimiento de cultivos para exportación ha superado consistentemente a la de los cultivos de alimentos básicos.

Los autores preguntan si el impulso en el aumento de la producción mediante el uso de semillas mejoradas realmente está suministrando comida a los pobres y los hambrientos. Como ellos muestran, las semillas mejoradas que son criadas en laboratorios y en campos experimentales, son mucho más vulnerables que las semillas que se han desarrollado durante miles de años en el sitio donde son producidas y usadas. Esta vulnerabilidad tiene que ser protegida y complementada con el uso extensivo de plaguicidas y fertilizantes para que produzcan sus rendimientos superiores: esto los convierte en un producto prácticamente inaccesible a productores de bajos ingresos. Los autores hacen referencia a estudios conducidos por organizaciones tan prestigiosas como la Organización Internacional de Trabajo, la Organización Mundial de la Salud y el Banco Asiático de Desarrollo, que muestran que esa producción extra de alimentos (que los plaguicidas ayudan a lograr), se exporta con mayor frecuencia, o si no, se usa para alimentar al ganado. Estos estudios indican que el proceso descrito en realidad aumenta los niveles de pobreza y alienta el cambio hacia la producción de cultivos para exportación. Además, las personas que trabajan en el campo del desarrollo saben que las divisas ganadas por medio de las expon-

taciones agrícolas raramente son traducidas en condiciones mejoradas de vida para la mayor parte de las poblaciones rurales.

**Circle of Poison** también describe cómo la industria agroquímica ha penetrado en el Tercer Mundo, usando organizaciones de desarrollo nacionales e internacionales para introducir, patrocinar y promover sus insumos a productores del Tercer Mundo mediante programas de asistencia, crédito y transferencia de tecnología, y por medio de la participación directa de esta industria en organizaciones como la FAO, donde el Programa Cooperativo de Industrias, una organización "sin fines de lucro" de corporaciones de agronegocios, tuvo atributo oficial de asesoría por más de 12 años. De esta manera, las corporaciones tuvieron la oportunidad de ponerse en contacto con estructuras de mercadeo y distribución que alcanzan a pequeños agricultores por todo el mundo. El libro también indica que las principales compañías de químicos están comprando las empresas tradicionales de semillas a una tasa alarmante, lo que indica su interés en controlar el mercado mundial de semillas. Muestran, por ejemplo, que la Compañía Shell ya es la empresa más grande del mundo en el mercado de semillas. Es posible que muy pronto, agricultores de todo el mundo dependerán de estas compañías para conseguir sus semillas, fertilizantes y plaguicidas.

**Circle of Poison** indica el porqué los pobres se vuelven más pobres y los ricos más ricos, y la razón del porqué tantos esfuerzos de desarrollo fallan en sus intentos de mejorar las condiciones sociales y económicas. Esto conduce a que los lectores se pregunten sobre la definición misma de la palabra "desarrollo", y a meditar sobre si el modelo que conocemos realmente ayuda a "desarrollar" estructuras sociales y económicas más justas en los países de menor desarrollo, o si, en forma inconsciente, sirve para "desarrollar" los mercados de las corporaciones multinacionales.

SUSANA RAINÉ  
INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACIÓN PARA LA AGRICULTURA (IICA)  
SAN JOSE, COSTA RICA

BRADY, N. C. (Ed.). *Advances in Agronomy*. Volume 33. Academic Press. New York. 374 p. 1980. US\$ 41.50.

Con la cooperación de la American Society of Agronomy se publica este volumen de la ya larga serie

que busca recoger algunos de los adelantos más recientes logrados en el campo de la Agronomía.

En este caso se presentan 9 trabajos sobre diversos aspectos de las ciencias agrícolas, preparados por 18 autores, la mayoría de ellos investigadores de instituciones docentes de los Estados Unidos.

El primer artículo, del cual son autores dos funcionarios del Departamento de Agricultura, se refiere a los llamados sistemas conservacionistas de labranza del suelo o sea a los métodos de cultivo desarrollados en los años 30, basados en el mantenimiento permanente de una capa de residuos sobre la superficie de los terrenos, y en la remoción mínima o nula del suelo; los autores, Unger y Mc Calla, hacen una revisión amplia de lo que se sabe sobre el sistema, el cual, en resumen, reduce en muchos casos la producción en zonas húmedas y subhúmedas, pero la aumenta en zonas áridas y semiáridas y disminuye la escorrentía y la erosión hídrica y eólica.

Los cinco trabajos siguientes, que también son meticulosas revisiones de literatura, se refieren al papel del potasio en la producción de cosechas; la utilización de especies silvestres para el mejoramiento de plantas cultivadas; la fijación de nitrógeno en sistemas de suelos inundados; los aspectos competitivos de la asociación gramíneas-leguminosas; la pérdida de nitrógeno desde el cogollo de las plantas y las características de producción del *Bromus inermis* y su herencia. Fácil es darse cuenta de la variedad de temas que cubren los cinco trabajos mencionados y de su muy desigual importancia tanto desde el punto de vista agronómico como económico.

Finalmente hay, en el volumen que comentamos, dos trabajos que queremos separar y que se refieren el primero a la experiencia que se ha tenido en varios países con la aplicación del sistema de "taxonomía de suelos" de los Estados Unidos, y el segundo a la transferencia de agrotecnología en los trópicos, utilizando ese mismo sistema de clasificación de suelos.

Como es sabido, hacia mediados del presente siglo, el Servicio de Conservación de Suelos de los Estados Unidos, resolvió desarrollar un sistema nuevo de clasificación de suelos totalmente diferente a los que hasta entonces estaban en uso. Hasta esa fecha, el sistema predominante se basaba en los factores de formación del suelo y se debía principalmente, a los trabajos de Dokuchaiev y otros pedólogos rusos de principios de siglo, adaptados magistralmente a las condiciones de los Estados Unidos por Marbut. El nuevo sistema (denominado simplemente y en forma un poco arrogante, "soil taxonomy") ha

tenido grandes dificultades en difundirse y ha sido sometido a un vigoroso y prolongado proceso de perfeccionamiento, que hoy lleva más de treinta años y que ha producido siete "aproximaciones" con revisiones en ocasiones profundas hasta tornar obsoleta la aproximación anterior. El primero de los dos trabajos a que nos referimos en esta parte de la reseña, fue escrito por Cline, de la Universidad de Cornell, y se basa en los resultados de una encuesta respondida por expertos de suelos de 46 países. Si a sus resultados nos atenemos, el sistema de los Estados Unidos ("soil taxonomy") se utiliza en forma estable y continua en doce países, de los cuales cinco están localizados en América Latina y el Caribe (Argentina, Chile, Colombia, Ecuador y Guyana); se usa con frecuencia, como sistema secundario, en 19 países y no se utiliza en otros 19, entre los cuales se incluyen Australia, China Popular, Francia, Alemania, México, Holanda, Noruega, Escocia y Rusia. Además, se han detectado como problemas principales para su aplicación, la complejidad de que adolece el sistema; la manera de aplicar las características de diagnóstico del horizonte argílico; la falta de datos de laboratorio adecuados y el costo de obtenerlos. Todo un conjunto de dificultades que resume el autor en términos de capacitación del personal que usa el sistema, para no solamente enseñarles la metodología de observación e interpretación del sistema sino también los principios básicos de la ciencia del suelo, "actitud científica y ética" (Sic).

Los suelos tropicales son, tal vez, el mayor problema con que el sistema ha tropezado; por ejemplo, aún hay controversia sobre la definición del orden Oxisoles y el rango de suelos que debería incluir, lo mismo que sobre las relaciones entre el mismo orden y los Alfisoles y Ultisoles, ya que estos se clasifican con base en la presencia de un horizonte argílico que en este caso, en sorprendente contraste con sus sinónimos de zonas templadas, tiene propiedades asociadas con arcillas de baja actividad no muy diferentes a aquellas del horizonte Oxico. Para enfrentarse a estas dificultades se ha formado un comité internacional sobre suelos tropicales, el cual ha organizado varias reuniones que, forzoso es confesarlo, poco han contribuido a avanzar en la solución de los problemas señalados.

El otro trabajo se refiere a la relación que existe entre la taxonomía de suelos y la transferencia de tecnología en los trópicos. Los autores, que son cinco, de los cuales uno trabaja en la Universidad de Puerto Rico y dos en la Universidad de Hawaii, abundan en razones bastante obvias sobre la importancia de contar con una clasificación común de suelos como base para que los países menos desarrollados puedan aprovechar los resultados experi-

mentales obtenidos en instituciones de países avanzados; dan luego una explicación sobre el sistema estadounidense de clasificación ("soil taxonomy") y resumen los resultados obtenidos en varios proyectos que la Universidad de Puerto Rico (con el apoyo del AID) ha establecido, para "demostrar" cómo se transfieren a los países tropicales y subtropicales los conocimientos obtenidos en los Estados Unidos sobre manejo de suelos y producción de cultivos, utilizando la categoría "familia de suelos" como un punto de referencia.

Sobre el futuro del sistema de clasificación de suelos de los Estados Unidos, los autores reconocen que aunque en su condición actual no puede usarse adecuadamente para suelos tropicales, "ello no es una deficiencia del sistema sino un reflejo de su estado de desarrollo", y fácilmente pueden incorporársele modificaciones paulatinas de la misma clase de las que se introdujeron en las sucesivas "aproximaciones" del sistema, hasta que se cuente con datos más completos y precisos sobre los suelos de "latitudes más bajas".

En las páginas finales, los autores del trabajo que comentamos, recalcan sobre la importancia de contar con un sistema universal de clasificación de suelos; una metodología estándar para efectuar e interpretar los reconocimientos de suelos; un sistema internacional de correlación y control de dichos conocimientos y una red de "bancos de datos" para almacenar, analizar y diseminar información sobre el comportamiento de diferentes suelos y cultivos.

Vale la pena anotar que cada uno de los trabajos incluidos en este volumen de Avances en Agronomía, contiene una amplísima bibliografía, que en algunos casos llegan a ser casi exhaustivas, de los trabajos sobre cada tema publicados en idioma inglés.

FERNANDO SUAREZ DE CASTRO  
INSTITUTO INTERAMERICANO  
DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA  
SAN JOSE, COSTA RICA

BISWAS, M. R. AND BISWAS, A. K. (Eds.) Desertification. Associated case studies prepared for the United Nations Conference on Desertification. Pergamon Press. England. 1980. 523 p.

Las Naciones Unidas convocaron, en 1977, a una conferencia sobre desertificación, la cual sirvió para

llevar a cabo una gigantesca movilización mundial alrededor del problema de la destrucción del potencial biológico de los terrenos localizados en áreas áridas y semiáridas. La sequía en el Sahel, con sus dramáticas consecuencias de hambruna y miseria, que el cine y la televisión se encargaron de hacer conocer en todo el mundo, fue el acicate para este despertar de la conciencia de la humanidad, traducida (en lo que específicamente nos ocupa ahora), en numerosísimas reuniones de carácter técnico y una magna asamblea realizada en Nairobi, de carácter "político" a la cual asistieron representantes de 95 gobiernos.

El volumen que comentamos, lo componen los estudios de 6 casos de desertificación y su combate, preparados por técnicos de los respectivos países y presentados en las reuniones regionales preliminares a la reunión de Nairobi.

El primero de esos casos se refiere a la vertiente del río Gascoyne en Australia, área con clima árido, de cerca de 60 mil kilómetros cuadrados, muy poco habitada y dedicada a la cría de ovejas, en la cual ha habido alguna degradación del ecosistema.

El segundo caso, el más amplio de todos, es un relato de cómo se está combatiendo la desertificación en China, en donde "bajo el liderazgo del Jefe Mao y del Partido Comunista Chino" se lleva a cabo un ataque concertado a los problemas de la desertificación "en el cual se han logrado grandes éxitos"; luego de la explicación general, a escala del gigantesco país asiático, se entra a detallar la manera como se desarrolla el programa antidesierto en una pequeña comuna de 1 640 kilómetros cuadrados de superficie, situada en la Región Autónoma de la Mongolia Interior y en la Municipalidad de Turfan en la Región Autónoma de Vighur-Sinkiang.

El tercer caso nos traslada a Irán y se refiere al Programa Turán, proyecto piloto que cubre 1.8 millones de hectáreas en el borde noreste del desierto central de ese país.

El cuarto caso es de Israel y explica la manera como se ha "recuperado" el desierto del Négev, que con 12 mil kilómetros de superficie representa el 62% del área total de Israel "dentro de las fronteras anteriores a 1967".

El quinto caso tiene que ver con el programa de rehabilitación del Distrito Vale en Oregón, Estados Unidos; en esa área de cerca de 10 mil millas cuadradas, caen en promedio, menos de 10 pulgadas de lluvia al año; aparte de una porción con riego localizada al noroeste, el resto del área está dedicada a una ganadería extensiva, con praderas naturales de muy

baja capacidad de sostenimiento, las cuales han sufrido deterioro por sobrepastoreo.

El sexto caso se refiere a la Estepa Golodnaya en Rusia; con una superficie de más de 600 mil hectáreas, de las cuales cerca de 270 mil se han mejorado ya con sistemas de riego, y se hallan dedicadas principalmente a producir algodón; allí se han organizado "Koljoses" y fincas estatales de gran tamaño que producen cosechas abundantes con el respaldo de inversión cuantiosa y una alta mecanización.

Por último, se presenta el programa que el gobierno ruso lleva a cabo en el Turkmenia (o Turmeniscan) para el desarrollo integrado y el control de la desertificación de esta zona desértica localizada en el centro de Asia, que constituye una "República Socialista Autónoma" que forma parte de la Unión Soviética.

Luego de la lectura, así sea rápida, de este conjunto de casos diferentes, tanto en tamaño del área, como en características físicas, biológicas, sociales y económicas, fácil es llegar a la conclusión, destacada por los editores en el prefacio de la obra, que globalmente contamos con la tecnología básica y los recursos humanos y financieros necesarios para resolver los problemas de la desertificación. Lo que hace falta, de manera primordial, es tener conciencia de la gravedad de la situación y contar con la voluntad política a nivel nacional e internacional para poner en práctica programas que necesariamente afectan intereses creados y obligan a encauzar recursos, originados en otras zonas con mayores potencialidades productivas naturales, hacia las regiones afectadas por el avance del desierto.

La obra incluye dos apéndices voluminosos de mapas diversos referidos al Distrito Vale, Oregón (quinto caso examinado) y al Programa Turán en Irán (tercer caso examinado); esa cartografía va desde mapas de grupos de suelos, vegetación e isoyetas hasta localización de áreas de manejo de caballos salvajes y facilidades recreativas para la primera área y distribución de carreteras, líneas de contorno, refugios para la vida silvestre y vegetación para la segunda de las áreas señaladas atrás.

FERNANDO SUAREZ DE CASTRO  
INSTITUTO INTERAMERICANO  
DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA  
SAN JOSE, COSTA RICA

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Los álamos y los sauces en la producción de madera y la utilización de las tierras. Roma, FAO, 349p. (Colección: Montes no. 10).

Esta obra está basada en "Los chopos en la producción de madera y la utilización de nuevas tierras", publicado por la FAO en 1957.

No se trata de una simple actualización del texto original sino que hace significativos aportes en el área de la "Salicicultura". Y en cierta forma cubre un vacío que existía para quienes deseaban hacer una rápida aproximación al conocimiento, manejo y utilización forestal de las Salicáceas.

La obra cumple una doble función: no sólo es una fuente de consulta para quien tiene la inquietud de introducirse en el tema, dada la simplicidad de su estructuración; sino también para el especialista, en vista de la profundidad y el alto nivel con que ha sido tratado cada tema.

Dada la demanda creciente de materia prima proveniente de especies de rápido crecimiento en diversos países del mundo, la madera de las Salicáceas puede desempeñar un papel mucho más relevante para cubrir estas necesidades.

El libro se divide en quince capítulos, ilustrados con numerosas fotografías en color y en blanco y negro, así como con figuras y cuadros y sus correspondientes listas identificativo-explicatorias detalladas.

Llama la atención la poca cantidad de referencias bibliográficas. Sólo se incluyen 82 citas, que sin duda podrían ser muchas más en una obra de 349 páginas y con tan amplio espectro de temas.

Un hecho interesante, es que reúne en una lista 66 especies de álamos y 34 de sauces y en otra 80 cultivares entre ambos géneros, aunque en ninguna de ellas aparecen *Salix babylonica* x *Salix alba* cv. 131-25 y cv. 131-27, a pesar de que este último es mencionado en la fotografía de la página 68.

En el capítulo 13, se introduce el concepto de sistema agroforestales combinando álamos con cultivos agrícolas o con pasturas; el tema es ilustrado con fotografías que reflejan la aplicabilidad del sistema en Italia.

Un tema de actualidad es la mejor utilización de la biomasa producida por las salicáceas, ya que actualmente sólo se aprovecha el 57% o menos del

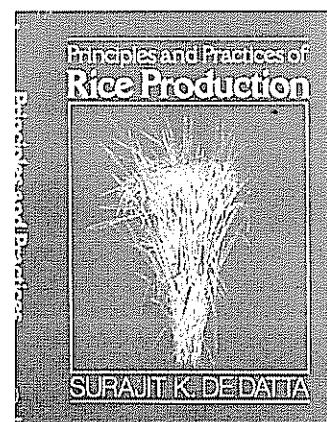
total producido (pág. 285). Obviamente merecería estudiarse con más detalle el aprovechamiento de ramas y material delgado actualmente no utilizado.

Finalmente conviene elogiar la presentación cuidadosa y la alta calidad de la impresión y reproducción de fotografías.

RICARDO OMAR RUSSO  
PROGRAMA RECURSOS NATURALES  
RENOVABLES  
CATIE, TURRIALBA, COSTA RICA

DE DATTA, S. K. Principles and Practices of Rice Production. John Wiley and Sons, New York, 1981. 618 p.

La dieta diaria de aproximadamente el 40 por ciento de la población mundial se basa en el arroz, como principal fuente de calorías.



En muchos países, particularmente de Asia, América y África, el cultivo de este cereal genera empleo e ingreso para un importante sector de la clase rural. La necesidad de incrementar más rápidamente su producción y productividad se ha tornado crítica en varias partes del mundo.

Por eso, resulta oportuna la obra "Principles and Practices of Rice Production", del Dr. Surajit K. De Datta, un experimentado investigador en arroz y Jefe del Departamento de Agronomía del Instituto Internacional de Investigaciones en Arroz (IRRI), en Filipinas.

El libro, como lo indica el autor, se dirige principalmente a estudiantes y científicos agrícolas interesados en el tema.

Consta de 14 capítulos que cubren los tópicos más pertinentes de la investigación realizada en las zonas

de mayor producción de arroz en el mundo. En el primer capítulo se destaca la importancia alimenticia y extensión geográfica del cultivo.

Los aspectos ecológicos, abarcando principalmente el clima y los suelos, son tratados en los tres capítulos que siguen. El quinto capítulo se refiere a la morfología, crecimiento y desarrollo de la planta de arroz.

En el capítulo 6 el autor presenta una reseña del mejoramiento varietal del cultivo y en los 6 capítulos subsiguientes, se refiere a las principales prácticas culturales observadas en los sistemas de producción más importantes del grano.

El procesamiento del producto se considera en el capítulo 13, y en el último se explora el potencial y se enfocan las limitaciones del desarrollo de tecnología mejorada en la producción de arroz.

El autor bien reconoce que en un solo libro no cabría fácilmente una revisión exhaustiva de los conocimientos acumulados sobre el tema tratado. Por consiguiente, optó por hacer énfasis en los adelantos científicos-técnicos más significativos y recientes, ofreciendo al lector una referencia sintetizada y útil sobre los principios y prácticas de la producción de arroz.

ANTONIO M. PINCHINAT, CPC  
INSTITUTO INTERAMERICANO  
DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA  
SAN JOSE, COSTA RICA

GREGORY, P. H. and MADDISON, A. C. Epidemiology of *Phytophthora* on cocoa in Nigeria. Final report of the International cocoa beach pod research project. Commonwealth Mycological Institute, Kew-Surrey, England.

La industria mundial manufacturera de chocolate y los productores de cacao, han estado muy atentos a la problemática de enfermedades y entre éstas a la causada por las especies de *Phytophthora* que causa la mancha negra de la mazorca.

El estimado de las pérdidas que esta enfermedad causa en la producción está en el 10% de la producción mundial de cacao, equivalente a 150 000 toneladas de la "semilla" que al precio de £ 1 000 por tonelada, representa un valor de £ 150 millones.

La enfermedad de la mancha negra de la mazorca, presenta variaciones en su ataque: hay países productores de cacao, donde la enfermedad no causa graves daños y otros en que, por el contrario, la enfermedad llega a causar pérdidas del 80 al 90% del cultivo.

Los métodos recomendados para su control son: el uso de fungicidas, aunque la aspersión resulta muy costosa y en muchos casos anti-económica. Por lo tanto se necesita conocer mejor al hongo y sus medios de diseminación, para lograr métodos más eficientes de su control.

La necesidad de nuevas investigaciones se hace imprescindible, y como resultado de esto las distintas conferencias en investigación en cacao han dado sugerencias en cuanto a una más profunda investigación de la epidemiología del *Phytophthora* en cacao.

La organización de la investigación en cacao, de la Oficina Internacional, financió un proyecto para un período de tres años, con la ayuda del Instituto Americano de Investigación en Cacao, que se llevó a cabo en Nigeria.

Como resultado de estas investigaciones en la epidemiología del *Phytophthora* spp. en cacao, los editores Gregory y Madison publicaron este compendio.

La edición comprende 11 capítulos en diferentes aspectos de la epidemiología, tales como especies, inóculo, diseminación, características, sumario y conclusiones, así como dos apéndices y una relevante lista bibliográfica.

Para los investigadores de la problemática del *Phytophthora* es de gran interés y utilidad el análisis de esta obra para adelantar acciones en el control de esta enfermedad.

FEDERICO DAO  
INSTITUTO INTERAMERICANO  
DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA  
SAN JOSE, COSTA RICA

AN INTRODUCTION TO FEEDING FARM LIVESTOCK (INTRODUCCION A LA ALIMENTACION DEL GANADO) por Robert H. Nelson. Pergamon Press Ltd., Oxford, England. 156 pp. £ 4.00.

Esta segunda edición contiene una información útil y básica sobre principios nutricionales y la formulación de raciones para ganado.

Su contenido incluye dos partes principales: El animal y su alimento y la formulación de raciones alimenticias para el ganado.

En la primera parte se describe las funciones del alimento en el animal, los principales constituyentes del alimento: agua, carbohidratos, proteína, grasas, minerales, vitaminas y las relaciones de éstos con las funciones fisiológicas. Se detalla en una forma clara y concisa la digestión y el sistema digestivo con una serie de conceptos básicos y elementales para el estudiante y productor.

Como introducción a la formulación de raciones el autor describe y discute las principales diferencias de las distintas fuentes de alimento más comúnmente usado. Forrajes toscos (alto contenido de fibra, baja humedad, bajo contenido de fibra, alta humedad y alto contenido de fibra y humedad) y los concentrados de bajo contenido de humedad de un alto valor nutricional.

La segunda parte del libro la dedica a la formulación de raciones para rumiantes y monogástricos y está basada en el sistema de energía metabolizable. Todos los valores están dados en el sistema métrico decimal y la formulación de las raciones es explicada en forma clara y comprensible en cada uno de los pasos que se siguen para la formulación de raciones. Es un libro recomendable para el profesor de las cátedras de alimentación, para el estudiante y para el productor.

HECTOR MUÑOZ  
PROGRAMA DE PRODUCCION ANIMAL  
INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA (IICA)  
SAN JOSE, COSTA RICA

Viene de la página 194

CONTRIBUCIONES DEL IICA A LA LITERATURA DE LAS CIENCIAS AGRICOLAS. Bibliografia Serie Documentación e Información Agrícola No. 12. Un volumen de 411 p.

BIBLIOGRAFIA SOBRE CATASTRO RURAL EN AMERICA LATINA. 1974. Serie Documentación e Información Agrícola No. 29. Un volumen de 68 p.

LA MUJER EN EL MEDIO RURAL. BIBLIOGRAFIA. 1975. Serie Documentación e Información Agrícola No. 41. Un volumen de 95 p.

BIBLIOGRAFIA SOBRE SILVICULTURA Y ECOLOGIA FORESTAL Y TROPICAL. 1975. Serie Documentación e Información Agrícola No. 43. Un volumen de 282 p. Precio US\$ 3.00.

BANCO DE DATOS DE BIBLIOGRAFIAS AGRICOLAS DE AMERICA LATINA Y EL CARIBE. 1977. Serie Documentación e Información Agrícola No. 61. Un volumen de 210 p.

BIBLIOGRAFIA SOBRE PESTE PORCINA AFRICANA Y PESTE PORCINA CLASICA. 1978. Serie Documentación e Información Agrícola No. 67. Volumen de 180 p.

BIBLIOGRAFIA SOBRE SENsoRES REMOTOS. 1979. Serie Documentación e Información Agrícola No. 72. Un volumen de 190 p. Precio US\$ 3.00.

BIBLIOGRAFIA PARTICIPACION DE LA MUJER EN EL DESARROLLO RURAL DE AMERICA LATINA Y EL CARIBE. 1980. Serie Documentación e Información Agrícola No. 78. Un volumen de 103 p. Precio US\$ 3.00.

BIOMASA Y OTRAS FUENTES NO CONVENCIONALES DE ENERGIA. Bibliografia. 1980. Serie Documentación e Información Agrícola No. 79. Volumen de 263 p. Precio US\$ 7.00.

A TRANSFERENCIA DE TECNOLOGIA E O PEQUEÑO AGRICULTOR. Juan Diaz Bordenave. 1980. Serie Publicaciones Misceláneas No. 213. Un volumen de 119 p. Precio US\$ 1.50.

INTRODUCCION A LA ESTADISTICA. 1981. Wilfredo Caballero. 2a. reimpresión 289 p.

EN BUSCA DE TECNOLOGIA PARA EL PEQUEÑO AGRICULTOR. 1981 Angel Marzocca. 499 p.

SUELOS DEL TROPICO. Características y manejo. Trad. Costa Rica, IICA, 1981 Pedro Sánchez 660 p.