

# TURRIALBA

REVISTA INTERAMERICANA DE CIENCIAS AGRICOLAS

VOLUMEN 26

TRIMESTRE ENERO-MARZO 1976

NUMERO 1

CODEN: TURRAB 26(1)1-105

<i>Notas y comentarios</i>	3
<i>Partenina, achilina y eugarzasadina tres nuevos inhibidores lactónicos del desarrollo vegetal (en español)</i> M Rojas Garcidueñas, X A Dominguez	10
<i>Actividades fotoquímicas de los cloroplastos de plantas con y sin vainas de los haces vasculares de las hojas (en inglés)</i> V S R Das, K R Rao, G. Sudhakara Rao, N Malakondaiah	14
<i>La mineralización del nitrógeno en suelos de cenizas volcánicas de Colombia y su relación con el crecimiento de Cupressus lusitanica (en español)</i> Jorge I del Valle	18
<i>Algunos aspectos físicos de los granos de café verde brasileño y la calidad de la bebida (en inglés)</i> H. V Amorim, R. Smucker, R. Pfister	24
<i>Efecto de dos fuentes de nitrógeno en la producción de materia seca y proteína bruta del pasto elefante (Pennisetum purpureum, Schum.) (en portugués)</i> José R bamar Pereira, Lucio O. Bastos d'Oliveira	28
<i>Incidencia y control de la podredumbre radical de las plántulas de marañón, Anacardium occidentale L. en el vivero (en inglés)</i> O. A. Olunloyo	33
<i>El virus del rayado fino del maíz: estudios adicionales sobre la relación del virus y su insecto vector (en español)</i> Rodolfo Paniagua, Rodrigo Gámez	39
<i>Factores que afectan la digestibilidad in vitro de los pastos tropicales (en inglés)</i> S. J. Cowlshaw, E. F. Unsworth	44
<i>Observaciones fenológicas en el bosque húmedo de premontano de San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica (en español)</i> Luis A. Fournier O.	54
<i>Fórmula para calcular la humedad residual del suelo durante el secamiento del suelo, a partir de datos meteorológicos (en inglés)</i> Warren M. Forsythe	60
<i>Acción del nematocida Furadan sobre las producciones de CO<sub>2</sub>, N-NH<sub>3</sub> y N-NO<sub>x</sub> en el suelo (en español)</i> Ramiro Jaramillo C., Mario Blasco L.	68
<i>Estudios fisiológicos de la floración del café en las condiciones del Sur de la India V. Contenido de sustancias de crecimiento durante el desarrollo de las yemas y la antesis (en inglés)</i> N. H. Gopal, D. Venkataramanan	74
<i>Análisis de 12 plantaciones de Toona ciliata en Turrialba, Costa Rica (en español)</i> Augusto Otárola, Jacob L. Whitmore, Rodolfo Salazar	80
<i>Influencia de aspersiones de pre cosecha de etrel sobre la maduración y abscisión de las cerezas de café (en inglés)</i> Tola Oyebade	86
<i>Comunicaciones</i>	
<i>Efecto de urea y de urea-azufre en la producción de banano 'Giant Cavendish' en Guápiles, Costa Rica (en español)</i> Ramiro Jaramillo C., Rufo Bazán	90
<i>Latencia en semillas de Corchorus olitorius (en inglés)</i> A. C. Adebona, S. A. Adelusi	95
<i>El dendrofenograma, una representación gráfica del comportamiento fenológico de los árboles (en español)</i> Luis A. Fournier O.	96
<i>Una plántula mutante de P. n. caribaea, var. hondurensis incapaz de desarrollar agujas secundarias normales (en inglés)</i> Charles R. Venator	98
<i>Reseñas de libros</i>	100



INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA

San José, Costa Rica

CR ISSN 0041 - 4360

# Notas y Comentarios

*En esta sección se publican notas de interés técnico sobre conferencias internacionales, programas de investigación, extensión y educación, nombramiento de personal directivo, organización de nuevas instituciones, distinciones honoríficas a hombres de ciencia, nuevas revistas, misiones y exploraciones y sobre otros asuntos relacionados con las ciencias agrícolas en las Américas. Informaciones que sirvan de base para noticias de interés general pueden remitirse a ADALBERTO GORBIIZ, Editor de la Revista.*

## *Segundo Congreso Brasileño de Bosques Tropicales*

En la Escuela Superior de Agricultura de Mossoró (ESAM), Rio Grande do Norte, se realizará, del 18 al 24 de julio de 1976, el II Congreso Brasileño de Florestas Tropicais, organizado conjuntamente por la Sociedad Brasileña de Ingenieros Forestales y la ESAM.

Para las reuniones técnicas, se han establecido cuatro secciones, a saber: 1) Manejo Forestal, 2) Recursos Naturales Renovables, 3) Silvicultura, y 4) Utilización y Tecnología Forestal. El comité organizador está presidido por Jerónimo Vingt-un Rosado Maia (Director de la ESAM), actuando de coordinador Roberto da Silva Ramalho (Director de la Escuela Forestal de Viçosa).

## *Simposio sobre raíces tropicales*

El Cuarto Simposio sobre Cultivo de Raíces Tropicales tendrá lugar del 1º al 8 de agosto en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), en Cali, Colombia. Los temas principales serán: 1) Evolución, diseminación y mejoramiento; 2) Producción; 3) Pérdidas antes y después de la cosecha; 4) Utilización. Los idiomas serán español, inglés y portugués. Información: Dr. Eduardo Alvarez Luna, CIAT, Apartado Aéreo 6713, Cali, Colombia.

## *Reunión sobre alimentos producidos de desechos*

Hay un ambiente general de confianza entre los tecnólogos de alimentos de que en los próximos cinco años estarán listas para utilización comercial técnicas para cultivar varios hongos en una variedad de substratos sólidos y líquidos para su incorporación en alimentos para animales. En una Conferencia de dos días en abril de 1975 sobre Alimentos de Desechos, realizada en el College of Food Technology, en Weybridge, Surrey, Inglaterra, se describieron nuevos resultados de proyectos de investigación y desarrollo destinados a lograr alimentos para animales y posteriormente para humanos, mediante microorganismos cultivados sobre productos de desecho.

La producción masiva de alimentos de desechos se considera inevitable por lo menos por cinco razones. El crecimiento exponencial futuro de la producción agrícola no es ya más un dogma; el alimento sintético, que tiene su lugar propio, significa una demanda demasiado elevada sobre los recursos; la presión pública contra las sustancias contaminadoras dará ímpetu al aprovechamiento de desechos mediante su uso como medio de cultivo de algas y hongos; los hidrocarburos fósiles se acabarán como fuente de alimentos y fertilizantes y no sólo

como combustibles; y los desechos orgánicos son un reservorio renovable de compuestos de carbono.

Hay alguna discusión sobre la mejor manera de explotar los desechos. Por ejemplo, ¿qué nivel de tecnología se debería emplear? Conferencistas de la firma azucarera Tate and Lyle, al describir la planta piloto que se construirá en Belize, en América Central, expusieron cómo un tanque simple con un agitador y un filtro podría suministrar alimentos para animales a partir de fruta mala y melaza; y cómo esto podría ser bastante económico en el mundo en desarrollo al alcanzar un nivel de producción de 500 toneladas de alimento proteico por año. El mismo equipo describió investigación paralela en procesos para cultivar hongos en sólidos filtrados de efluvios líquidos de baja concentración, tales como los de plantas procesadoras de olivo y palma de aceite. Los investigadores expresaron que el mundo en desarrollo requiere tecnología en una escala muy pequeña y a un costo de capital muy bajo. Al mismo tiempo, son importantes pruebas de toxicidad y asimilación.

Delegados que están trabajando en las plantas de proteínas unicelulares de petróleo (véase *Turrialba* 21:5, 1971) expresaron, en oposición a lo anterior, que habían serios riesgos de que patógenos contaminasen las plantas de fermentación que no eran construidas conforme especificaciones exigentes. También cuestionaron la sabiduría de vender unidades de tecnología baja si estas no podían ser controladas.

Otro campo de desacuerdo concierne el posible papel de las algas. Después de un entusiasmo en los novecientos cincuenta, la concentración en técnicas de ingeniería del proceso había reducido el interés en el cultivo de algas hasta el punto que en el simposio sólo se presentó un trabajo sobre esta materia: el resto del certamen estuvo dominado por los mohos y levaduras.

Estudios recientes han mostrado cómo las algas, especialmente las algas filamentosas que crecen en lagunas no profundas (incluso aquellas usadas en el tratamiento de desagües), asociadas con cría de peces en países en desarrollo, podrían provocar el retorno de la proteína algal debido a que no es necesaria nueva tecnología. Delegados de la Universidad de Queen, en Belfast, también apoyaron a las algas. Señalaron que las algas eran más apropiadas para ser cultivadas en desechos de fincas que cualquier otro microorganismo, que los modelos matemáticos que habían preparado habían mostrado que las algas podían cultivarse productivamente en el clima templado de Gran Bretaña y de otros países; que la productividad de cultivos mezclados de algas y bacterias era muy alta debido a que las concentraciones altas de glicolato excretadas por las algas alimentaban a las bacterias; y que la evidencia reciente sugería que las algas podrían ser hechas digestibles con facilidad. Las algas cosechadas, por ejemplo, podrían ser mezcladas con aserrín como lastre, para alimentar bovinos.

El aceite unicelular puede pronto ser un concepto tan familiar y popular como la proteína unicelular, según el Dr. Colin Ratledge de la Universidad de Hull. Indicó que el consumo promedio de aceites y grasas en el mundo en desarrollo era alrededor de la mitad del que se considera adecuado para una nutrición saludable, y esto es principalmente debido a la

exportación de estos materiales a los países desarrollados. Sus experimentos han mostrado que las levaduras cultivadas en los medios usuales para la proteína unicelular, podían ser persuadidas a hacer aceites valiosos, ya sea para consumo humano o para varios usos industriales, ajustando los factores del ambiente. Si sus suministros de nitrógeno fueran cortados, por ejemplo, las levaduras podrían cambiar sus líneas de producción de proteína a aceite.

#### *Utilización de desechos del proceso de carnes*

Se calcula que se pierden en los desagües hasta 50.000 toneladas de peso seco de proteína anualmente en Gran Bretaña, en aguas residuales de plantas de preparación de carne vacuna y de pollos. En los países productores de carne en gran escala, como Australia y Nueva Zelanda, las pérdidas son todavía mayores. Esta pérdida no sólo es deplorable desde el punto de vista de la alimentación mundial, sino que crea un serio problema de eliminación ya que estos residuos industriales pueden ser 10 veces más fuertes en demanda biológica de oxígeno que los desechos urbanos domésticos.

A mediados de 1975, la firma Ecotech Systems (UK) Ltd. anunció en Londres un nuevo proceso para recuperar proteínas y grasas de esos desechos mediante el uso de una serie de resinas de intercambio de iones desarrolladas por el Dr. Roy Grant mientras trabajaba para el Departamento de Investigación Científica e Industrial de Nueva Zelanda. La compañía ha construido ya una planta de tratamiento de desagüe en escala comercial para una empresa que comercia con pollos en St. Ives cerca de Cambridge, Inglaterra, y la casa principal en Nueva Zelanda está construyendo una planta más grande en Nelson, capaz de manejar 3.400 metros cúbicos por día (750 m<sup>3</sup> galones imperiales).

La clave del proceso es una mezcla de resinas de cambio de iones basadas en la celulosa las que, según Grant, son las primeras de esta clase de resinas que adsorben satisfactoriamente proteínas. La casa principal de Ecotech, Tesman Vaccine Laboratory Ltd., tiene actualmente una capacidad fabril de 50 toneladas por año de resinas, pero afirma que puede ser ampliada rápidamente si lo exige la demanda.

Las pruebas de alimentación han sido llevadas a cabo por la compañía, la que dice que la proteína recuperada por su proceso se compara bien en aumentos de peso y en economía como alimento del ganado. La proteína es removida de la resina por disolución en álcali y es precipitada después mediante tratamiento ácido (un proceso análogo a la producción de proteína de frijol para productos tales como el Kesp).

La compañía también está ejecutando ensayos con sus resinas en una planta de energía cerca de la New Forest, y en una destilería escocesa de whisky, para determinar su valor para purificar el agua de entrada.

#### *Mejoramiento de la cantidad y calidad de la proteína*

La importancia relativa de la proteína, frente a la deficiencia de proteína más calorías en escala mundial, sigue siendo debatida (Cf. *Turrialba* 25:107 1975). Cualquiera que sea el resultado final del debate, no debe oscurecer el hecho de que hay una necesidad de incrementar la productividad de las leguminosas, que además de ser ricas en proteínas, pueden fijar el nitrógeno de la atmósfera.

En niños, en los que se requieren pequeñas cantidades de alimentos, es esencial una mejora en la calidad de la proteína, tanto en dietas basadas en cereales como en leguminosas. Con adultos, la información disponible es insuficiente para juzgar la necesidad de proteína de mejor calidad porque la alimentación adulta es algo más variada. Sin embargo, en regímenes en los que la base de la alimentación es la yuca y otras raíces, la calidad de la proteína consumida puede ser inadecuada para su completa utilización; aquí el factor limitante puede ser los sulfoaminoácidos.

Muchos de estos problemas se discutieron en mayo de 1975 en la Tercera Reunión de Coordinación de la Investigación del Programa de Proteínas de Semillas FAO/IAEA/GSF, que tuvo lugar en Hahnenklee, Alemania.

Los asistentes al certamen estuvieron de acuerdo en que las variedades mejoradas en cantidad y calidad de proteína deben tener altos rendimientos para ser aceptadas por los agricultores. La vieja creencia de una relación negativa entre rendimiento de proteína y de grano se sabe ahora que, en general, no es válida y que, en trigo y arroz, por ejemplo, se han obtenido mejoras simultáneas en ambos caracteres. En la soja, una reestructuración ha conseguido un contenido muy alto de proteína y altos rendimientos.

Lo mismo no se puede decir, por ahora, para la calidad de la proteína. Las experiencias con maíz, cebada y sorgo ricos en lisina todas señalan a rendimientos algo reducidos de grano cuando se incluyen genes de alto contenido de lisina en un genotipo. Pero, informa D. Boulton en *Nature* (Vol. 256, p. 168), se reconoció que recién están comenzando los intentos de incorporar genes de alta lisina.

J. Axtell (Universidad de Purdue) describió investigaciones con sorgo. Una población de semillas fue tratada con el mutagénico sulfato dietil, y se hicieron selecciones en las generaciones siguientes para el carácter de endospermo opaco, pasando las semillas por una caja luminosa. Sólo ciertos genotipos de endospermo opaco llevaban también el carácter de alta lisina.

R. A. Olson (Universidad de Nebraska) ha encontrado una variabilidad considerable en las condiciones del suelo en campos usados para la cría genética, lo que resultó, probablemente, en variaciones en el contenido de proteínas. Estos y otros informes de varios otros lugares enfatizan las dificultades del mejoramiento proteínico debidas a interacciones gen/ambiente.

L. Munk (Laboratorios Carlsberg, Copenhague) consideró las perspectivas del uso de granos ricos en lisina para la alimentación animal. Primero, la industria debe apreciar la ventaja nutritiva de los granos ricos en lisina. Segundo, son necesarios procedimientos evaluativos fáciles. La presión de los industriales sobre los mejoradores conduciría entonces a la inclusión general del carácter alta lisina en los objetivos genéticos.

Es bien conocido que las leguminosas son nutritivamente deficientes en sulfoaminoácidos, y D. Boulter (Universidad de Durham) señaló que es necesario considerar a los dos, metionina y cisteína, en los trabajos de mejoramiento de leguminosas. Parece posible usar el azufre total de las semillas como un indicador aproximado de los sulfoaminoácidos. Tanto Boulter como R. M. Gillespie (CSIRO, Australia) sugirieron que hay perspectivas razonables de mejora nutritiva alterando en las semillas las proporciones de las proteínas mayores que contienen diferentes cantidades de sulfoaminoácidos. Boulter cree necesario formar colecciones mundiales para aumentar la variación, pequeña todavía, en el contenido de sulfoaminoácidos de las leguminosas.

Una nueva dimensión a este problema ha sido proporcionada en el trabajo del que informa Gillespie (*Australian Journal of Plant Physiology* 2:13-27, 29-39 1975). Se ha encontrado que en lupinos las proporciones relativas de las proteínas mayores de las semillas pueden ser cambiadas hasta cierto punto suministrando al cultivo azufre en diferentes niveles; en los tratamientos altos en azufre se aumentó la proporción de una proteína rica en azufre. Así, hay una fuerte interacción gen/ambiente, aunque no está claro si el efecto es directamente sobre la expresión de los genes a los niveles de transcripción o traducción, o si opera mediante un cambio fisiológico. Sería interesante ver si estos resultados pueden repetirse en otras leguminosas.

En el campo de las técnicas mejoradas para seleccionar y evaluar la calidad nutritiva de las líneas avanzadas, hubo un alentador informe de A. K. Kaul (Institut für Strahlenbotanik, Hannover) concerniente al uso de la fluorescencia para la determinación de lisina en muestras molidas de grano. Menos avanzada está una técnica similar para la determinación de triptófano.

Un número de científicos de los países en desarrollo informaron de progresos en el desarrollo de genotipos proteínicos mejorados en varios cultivos, como trigos panadero y duro, arroz, avena y varias leguminosas. Debido a la etapa temprana

del trabajo, no se hizo un intento de detallar los resultados pero prevaleció en la reunión un sentimiento optimista general. Por ejemplo, H. K. Jain (Nueva Delhi) estaba convencido que las leguminosas tropicales eran excelente material donde se podrían obtener grandes mejoras.

#### Fotocopia masiva en los Estados Unidos

Las fotocopias masivas de revistas científicas y técnicas pueden continuar haciéndose libremente en los Estados Unidos como consecuencia de una decisión de la Corte Suprema en 1975. La Corte tuvo un empate de 4 a 4 y dejó así continuar la validez de una orden de una corte más baja que permitía el copiado de material que se supone está protegido por derecho de propiedad.

El caso fue planteado por una casa editora, Williams y Wilkins, contra la National Library of Medicine y el National Institute of Health. En 1970 los dos centros de documentación recibieron 205.000 pedidos de copias de artículos con 'copyright' y suministraron 2,2 millones de páginas como resultado. Estimados recientes son de más de 20.000 millones de páginas fotocopiadas en Estados Unidos cada año.

Este desarrollo de la difusión de la información científica y tecnológica está operando en escala mundial, incluso en América Latina. Esto unido a los pedidos directos de separatas que atienden las propias revistas, hace que cada vez más el tiraje de una revista no refleje realmente el número de sus lectores. *Turrialba* ha recibido más de una vez órdenes de separatas de un artículo, en números que superan el tiraje de la revista.

#### Plagas que vuelan a largas distancias

Recientemente se han registrado vuelos de insectos dañinos importantes, que se pueden considerar records mundiales por las distancias cubiertas. En Mississippi se han encontrado dos picudos del algodón (*Anthonomus grandis*) que volaron 72 kilómetros en 11 y 27 días respectivamente. Otros estudios en el Golfo de México, con trampas colocadas en plataformas marinas petroleras, indicaron que el gusano de la mazorca del maíz (*Heliothis zea*) podía volar por encima de 150 kilómetros de agua. Por último, trampas colocadas en lo alto de una torre de televisión en Georgia atraparon mariposas del mismo *Heliothis*, que volaban a 520 metros de altura (*Agricultural Research*, Vol. 24, N° 1).

La determinación de estas distancias ayudará a modificar los planes futuros de erradicación, teniendo en cuenta las viejas suposiciones de que un aislamiento de unos pocos kilómetros era suficiente. Estos experimentos indican claramente que hay que trabajar con áreas más grandes para tener éxito en las erradicaciones.

Los estudios de dispersión se están realizando por W. I. Johnson, W. I. McGovern y J. E. Leggett, del Servicio de Investigación Agrícola de los Estados Unidos, y H. C. Mitchell con W. H. Cross de la Universidad del Estado de Mississippi. El trabajo incluyó la captura, marcado con colores y liberación de gorgojos, los que fueron capturados después con trampas diversas.

Los estudios con lepidópteros fueron realizados por R. D. Jackson, del Laboratorio de Caña de Azúcar, de Houma, Louisiana, y por A. N. Sparks, del Laboratorio de Insectos de Granos, de Tifton, Georgia. Las trampas se colocan en cuatro plataformas abandonadas en el área de la isla Eugenia, en el Golfo de México, que abarca una zona de 48 kilómetros de ancho y se extiende 240 kilómetros en el mar frente a las costas de Florida. Las trampas capturaron más de 100 especies de insectos adultos de siete diferentes órdenes. Los *Heliothis* capturados sumaron 27 a 52 kilómetros, 16 a 74 kilómetros, 8 a 106 kilómetros y 2 a 160 kilómetros.

Aunque *Heliothis zea* fue el insecto más dañino entre los capturados, las trampas cogieron también ejemplares de *Spodoptera exigua*, *Trichoplusia ni*, y *Anticarsia gemmatilis*.

#### Identificación de cromosomas parentales en el triticale

Mediante técnicas de coloración, se ha hecho posible distinguir los cromosomas de trigo y centeno presentes en las líneas de triticale que se están desarrollando en México. Un científico en postdoctorado en el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) modificó la técnica Giemsa de coloración de manera que los cromosomas aportados al triticale por el progenitor centeno se pueden distinguir de los aportados por el progenitor trigo (Revisión de Programas del CIMMYT 1975, p. 42). El científico que desarrolló la técnica es el Dr. Arnulf Merker, de Svalov, Suecia (*Hereditas* 75:280) y el trabajo que relata su investigación ha sido publicado también en *Hereditas* (80:41-52).

El uso de la técnica modificada de coloración mostró que cromosomas extras de trigo substituyen algunas veces cromosomas de centeno. Es decir, algunas líneas de triticale están produciendo plantas que tienen desde 7 pares de cromosomas de centeno (una serie completa) hasta un par de cromosomas de centeno. El conocimiento de cuántos y cuáles pares de cromosomas de centeno han sido reemplazados por cromosomas de trigo en una línea de triticale en particular, es valioso para los fitomejoradores. Las cruces entre triticale que tienen diferentes substituciones de cromosomas de centeno son estériles o segregan de modo anormal.

Una línea experimental conocida como Beagle es el primer triticale de alto rendimiento en el cual están presentes todos los cromosomas de centeno y todos los cromosomas de trigo duro. Algunos científicos pensaban que este logro no era posible.

#### La gran matanza de la fauna americana

La crueldad del hombre moderno al poner varias especies animales en peligro de extinción aparentemente no es nada comparada con la del primer hombre americano, que dejó a su paso a través del continente sólo los cadáveres de casi toda la fauna mayor existente en la Edad de Piedra.

Hace unos 11 mil años, en el apogeo de la Edad de Piedra, muchos mamíferos grandes, que vivían felices desde hacía muchos milenios, desaparecieron repentinamente del continente americano. Esto ha constituido un misterio para los geólogos por mucho tiempo. Una persona que cree que casi ciertamente hay una conexión entre este evento y la llegada a la escena del hombre paleolítico es Paul S. Martin, de la Universidad de Arizona. Ha propuesto la teoría de que el hombre primitivo, en esa época un gran experto en caza mayor, fue el responsable por la extinción de la megafauna. El y un colega, Austin Long, han publicado recientemente un artículo en *Science* (Vol. 186, p. 638) que suministra alguna evidencia firme para su idea.

Han estado examinando restos orgánicos, estiércol principalmente, del perezoso terrestre gigante. La datación con radiocarbono ha permitido comparar los tiempos de la extinción del perezoso en dos lugares diferentes, las cuevas Rampart, en Arizona, y otro mucho más al sur, cerca de Puerto Natales, en Chile. Los últimos datos obtenidos indican que en Arizona, los restos eran unos 300 años más antiguos que en los depósitos chilenos. Sus resultados indican que el perezoso dejó de existir en Rampart hace unos 11 mil años. Además, en las cuevas no hubo una gradual disminución de deposiciones en el estrato superior; esto sugiere una extinción repentina y no una población animal que sufre una presión gradual. Y, esto es importante para la teoría de Martin, en ambos lugares la época de la extinción del perezoso terrestre coincide casi exactamente con la llegada de los cazadores de la Edad de Piedra.

Estos resultados se eslabonan bien con las ideas originales de Martin sobre el efecto del hombre de la Edad de Piedra en el Nuevo Mundo, que él llamó de "supermatanza explosiva" (*Science*, Vol. 179, p. 969). Esta teoría propone una breve pero devastadora coexistencia de cazadores y animales grandes, probablemente de una duración no mayor de unos 10 años en cada lugar, lo que sería mayormente invisible para los paleontólogos. La idea de la supermatanza explosiva explica en gran

parte la paradoja que ha preocupado a los geocientíficos: la casi total ausencia de sitios de matanza en el continente americano, especialmente cuando se compara con las partes más templadas de Eurasia, donde los restos paleolíticos se encontraron junto con esqueletos de mamíferos grandes. Tal supermatanza también explica la ausencia de pinturas rupestres en el Nuevo Mundo; los animales fueron eliminados antes de que hubicra tiempo para pintar las especies antiguas.

Martin describe su historia como el Descubrimiento de América. En un momento casi al final de la última Edad del Hielo, cazadores de caza mayor de Siberia se movilizaron a Alaska y de allí gradualmente hacia el sur. Viniendo de la tundra congelada de Siberia Oriental y Alaska Occidental, los cazadores debieron haber estado felices con el clima más suave de su nuevo ambiente. Dejaron detrás de ellos también las principales enfermedades endémicas del Viejo Mundo, desconocidas en el Nuevo. Casi inevitablemente, estos dos factores solos habrían conducido a una vasta explosión demográfica, que resultó en una banda masiva de cazadores supremamente capaces y confiados, que preferían matar animales que usar otros medios de subsistencia. Esta banda encontró una abundancia de presas inocentes sin experiencia (mamuts, perezosos terrestres, caballos y camellos) y comenzó una carnicería rápida. Aparentemente, sólo se necesita una persona entre cuatro que destruya un animal por semana para matar la biomasa en un año. Sobre esta base, la extinción se consumió inevitablemente en una década. No hubo tiempo para que la megafauna aprendiera un comportamiento defensivo o para que se preservase algunos sitios de matanza para los arqueólogos.

Y así la banda invasora de cazadores avanzó hacia el sur, desde Canadá hasta el Golfo de México en 350 años, estima Martin, y de allí a la punta de América del Sur en unos 1000 años. Si este fascinante modelo es correcto, puede significar que la cronología de la extinción de la megafauna del Pleistoceno puede ser usada para cartografiar avances del *Homo sapiens* a través del Nuevo Mundo.

#### *El indio americano como conocedor de las plantas*

Siguen reconociéndose las contribuciones hechas por los americanos nativos prehispánicos en varios campos de la ciencia, ingeniería y medicina. En enero de 1975, la Asociación Americana para el Avance de la Ciencia reconoció formalmente estas contribuciones y acordó apoyar el estudio e investigación serios de los enfoques científicos tradicionales de los americanos nativos.

Un resultado de esto es un fascinante sumario hecho por Janet W. Brown en *Science* (Vol. 189, p. 38). Anota que los pueblos americanos tenían y todavía tienen especialistas, hombres y mujeres con destrezas altamente desarrolladas y conocimiento extensivo e íntimo de los cuerpos celestes, las cualidades químicas de las plantas, y las aplicaciones de materias animales y vegetales. Estos especialistas a veces tienen su propia jerga profesional.

Los indios de este hemisferio, por ejemplo, domesticaron seis de los trece cultivos alimenticios más importantes: maíz, frijoles, maní, papas, camotes y yuca. El maíz fue desarrollado de una planta silvestre, el teosinte, que puede crecer sólo cerca del ecuador. Mediante persistentes hibridaciones y selecciones durante siglos, se desarrollaron variedades que pueden crecer en una sorprendente variedad de condiciones.

Con respecto a la taxonomía vegetal, por ejemplo, algunos latinoamericanos conocían los usos farmacológicos de lo que ahora se conoce como Vitamina C, y ellos conocían que podría ser encontrada en ciertas cortezas, plantas hojosas y musgos que eran totalmente diferentes unos de otros en su apariencia interna.

Otros esfuerzos científicos incluyen un sistema taxonómico completo, conocimiento de uso amplio de drogas, incluso anestésicos, y el desarrollo de anticonceptivos orales eficaces.

El impresionante conocimiento que tenían las gentes americanas nativas sobre una amplia variedad de fenómenos naturales concluye Miss Brown, "no es sin embargo accidental, ni su adquisición ha sido al azar. Está basado en generaciones de investigación".

#### *Progresos en dos semillas oleaginosas tropicales*

Si la salvación en materia de alimentos consiste en procesos nuevos o en una mejor explotación de los antiguos, el National College of Food Technology en Weybridge, en Inglaterra, tiene un pie en cada campo. Un proyecto en Weybridge está dirigido a cambiar totalmente la imagen del aceite de sésamo (*Sesamum indicum*) en el Sudán simplemente cambiando un paso en su procesamiento. Por otra parte, su trabajo sobre los problemas del beneficio del aceite de palma (*Elaeis guineensis*) pone en órbita el novel concepto de cultivar alimento microbiano de desechos (*New Scientist* 66(954):665).

En el pasado, el producto más importante de las semillas de sésamo era el aceite; el residuo no ha sido apropiadamente usado o ha sido descartado completamente. Pero esos residuos tienen hasta 50 por ciento de proteína de buen valor, aunque a menudo contaminada, o sea inaprovechable aun para alimentación del ganado.

El residuo del sésamo, después de la molienda, contiene demasiado fibra y ácido oxálico como para consumo humano. Tanto la fibra como el ácido oxálico se encuentran principalmente en la cubierta externa de la semilla. Los investigadores de Weybridge han desarrollado un método para tratar la cáscara de la semilla con una solución alcalina de tal manera que pueda ser removida fácilmente antes de extraer el aceite. El residuo está entonces libre de ácido oxálico y contiene sólo una pequeña proporción de fibra. El sésamo es una de las mejores fuentes vegetales de metionina y cistina, las que faltan en la gran mayoría de plantas.

El proyecto malayo de Weybridge es también probable que tenga repercusiones más allá de la meta original. El problema allí es la gran cantidad de desechos líquidos producida en la elaboración del aceite de palma. El desecho parlo, viscoso y espeso se descarga en los canales; es desagradable para los agricultores que usan esa agua para riego.

La gente de Weybridge ha creado un proceso de laboratorio en el que los desechos son utilizados para cultivar hongos, que pueden ser recogidos fácilmente, tienen un buen valor nutritivo, y pueden ser usados para la alimentación de cerdos y pollos. Se han cultivado con éxito dos especies de hongos. El crecimiento fungoso también reduce la polución causada por los desechos.

Se cree que estos dos procesos se pueden aplicar en otros casos, como los desechos de olivo en Grecia y Turquía, donde se producen grandes volúmenes de líquido, y en África Oriental en la producción de sisal, donde se producen enormes cantidades de líquidos contaminados que, en la actualidad, se arrojan a los ríos.

#### *Isótopos en anillos de árboles indican temperaturas del pasado*

Los anillos en los troncos de árboles proveen una forma simple de datar una muestra de madera ya que cada uno de ellos corresponde a un año de crecimiento. También dan una idea general del clima pasado al variar su grosor. Pero, el análisis de los anillos anuales para estudiar cambios climáticos no ha resultado fácil. No es posible señalar si un anillo delgado corresponde a un verano seco o a uno frío, por ejemplo. Como especies diferentes son afectadas en forma diferente en estaciones diferentes, no nos dicen mucho sobre primavera o verano. Ahora, sin embargo, A. T. Wilson y M. J. Grinstead de la Universidad de Waikato, Nueva Zelanda, están abriendo una ruta para desarrollar un termómetro de anillos arbóreos que suministra una guía directa y exacta de las temperaturas del pasado (*Nature*, Vol. 257, p. 387).

La idea es agregar a los estudios de los anillos anuales otro indicador ampliamente usado de climas pasados, esto es, la proporción de diferentes isótopos de ciertos elementos en los estratos geológicos. El uso más común de esta técnica ha sido en analizar variaciones en las proporciones de isótopos de oxígeno encontrados en el agua proveniente de muestras de hielo extraídas de glaciares viejos, o en las conchas de moluscos marinos por mucho tiempo muertos. La proporción de isótopos depende de la temperatura en el momento en que el

agua se congeló o las especies marinas estaban elaborando sus caparazones calcáreos. Pero los cambios de temperatura también afectan procesos que involucran los isótopos de otros elementos.

El equipo de Nueva Zelanda ha examinado el efecto de la temperatura sobre la bioquímica de algunos procesos arbóreos que involucran al hidrógeno y al deuterio. Estudiaron el pino de Monterrey (*Pinus radiata*), en Hamilton, Nueva Zelanda. Durante el año en Hamilton, tanto la temperatura media máxima mensual, como la temperatura diaria media mensual, varían en un ámbito de 10°C. Estos efectos conocidos han hecho posible analizar cómo los cambios de temperaturas afectan a la madera que los pinos están depositando. Resulta que la tasa deuterio/hidrógeno (D/H) en la celulosa de diferentes sitios dentro de cada anillo anual muestra el ciclo de temperatura estacional, perdiendo la celulosa más deuterio cuando las temperaturas son más altas. Wilson y Grinstead atribuyen la fluctuación a un efecto de temperatura sobre una o más características todavía no identificadas de los procesos bioquímicos que producen la celulosa.

Cualquiera que sea la causa exacta, el descubrimiento de este efecto hace posible tener un termómetro para el que un cambio en D/H de 5 partes por mil corresponde a un incremento de temperatura de 1°C.

#### *El sabor amargo del cacao debido a dos compuestos*

Equipos de químicos en Suiza y en Francia han estado tratando de identificar la sustancia responsable del sabor amargo del cacao. Los investigadores en el pasado han aislado varios compuestos de sabor amargo pero ninguno tiene el sabor característico del cacao. Los equipos, uno de Firmenich S.A., Ginebra, y el otro del Institut de Chemie des Substances Naturelles, en Gif-sur-Yvette, Francia, han descubierto que el sabor pleno sólo puede ser generado por la interacción de dos compuestos (*Helvetica Chimica Acta*, Vol. 58, p. 1078).

En muchos alimentos, un sabor amargo puede ser atribuido a la proteína. En un medio acuoso, los aminoácidos hidrofóbicos de sabor amargo están envueltos en el interior de la proteína y sólo son expuestos en la digestión, que rompe la proteína en unidades péptidas cortas. Pero un aminoácido libre contiene un grupo amina y un grupo ácido, ambos hidrofílicos. Pueden estar bloqueados eficazmente al formarse un dipéptido cíclico, conocido como dicetopiperazida. El fuerte amargor de estos compuestos ha sido notado antes. Los actuales equipos han mostrado que las dicetopiperazidas se forman de la proteína durante el tostado de las almendras de cacao. Pero estos compuestos solos no poseen el amargor pleno del cacao. El sabor característico es, sin embargo, generado al añadir un segundo compuesto, la teobromina, que también es de sabor amargo, en la proporción de una parte de dicetopiperazida a dos partes de teobromina. Además, la mezcla resultante tiene un amargor más grande que la suma del de cada sustancia sola.

Se conocen muchos materiales que modifican el sabor del alimento. El más conocido es probablemente el glutamato monosódico, un estimulante del sabor, que es en sí mismo insípido. Otro grupo de sustancias que tienen el mismo efecto son los 5' nucleótidos, especialmente 5'-MGP y 5'-IMP. Estos compuestos han sido señalados que actúan específicamente con proteínas en los sitios receptores del gusto, quizás modificando la estructura de dichas proteínas en forma de que respondan mejor a un estímulo de los alimentos. En el caso del cacao, sin embargo, los químicos han mostrado que la mezcla de dos por uno de teobromina y dicetopiperazida forma un complejo químico. Como este es esencialmente un nuevo compuesto, es posible que sensibilice las yemas del gusto en forma diferente. Así la acción de un agente modificador del sabor ha sido, por primera vez, atribuida directamente a la interacción con un componente del alimento, y no con las papilas del gusto como sugieren las actuales teorías. Como la teobromina es estructuralmente similar a las bases purínicas en 5' nucleótidos, el descubrimiento podría tener implicaciones más amplias para nuestra comprensión de la química del sabor.

#### *Manzanos producidos a partir de meristemas*

El cultivo de tejidos puede suministrar un método rápido de multiplicar líneas existentes, genéticamente puras, de manzano, y puede también acelerar la distribución de nuevas líneas que resulten de mutaciones provocadas o de sistemas más tradicionales de mejoramiento genético. Las técnicas para lograr este objetivo se están desarrollando en la Estación Experimental de Long Ashton, Inglaterra (*New Scientist*, 10 July, 1975).

La técnica básica consiste en que los ápices de los brotes se cortan asépticamente de árboles adultos o de plántulas jóvenes. Estos meristemas se colocan en tubos estériles desechables en un medio agar cuidadosamente controlado, que contiene sales minerales, sacarosa, vitaminas, y una citocinina, que estimula un crecimiento diez veces más rápido de nuevos brotes en unas cuatro semanas. Cada nuevo brote puede ser entonces subcultivado en un medio fresco, donde continúa multiplicándose a una tasa similar, y el proceso se repite, de manera que en un año un solo meristema puede proveer 10<sup>11</sup> nuevos brotes. Los meristemas de plántulas proliferan con más vigor que los de árboles adultos.

La mayoría de los brotes produce raíces al ser tratados con la hormona ácido indolbutírico (AIB) y ser cultivados después en un medio de baja concentración de citocininas; nuevamente, los brotes de plántulas responden más vigorosamente que los brotes de adultos. La variabilidad genética de las plántulas les permite adaptarse a las condiciones de cultivo de tejidos que los brotes fisiológicamente más viejos. Las plantas de manzano pueden ser establecidas en condiciones de invernadero apenas dos meses después del tratamiento hormonal. Las pérdidas son todavía inaceptablemente altas cuando las plantas son transferidas del cultivo estéril al invernadero, de tal manera que el trabajo actual está concentrado en mejorar el comportamiento de las plantas en las etapas transicionales.

La multiplicación de plantas a partir de meristemas ya tiene más de una década de ser materia de investigaciones. Hay ya aplicaciones comerciales, especialmente en orquídeas (cf. *Turrialba* 18:6 1968). Su aplicación a frutales de gran consumo como el manzano promete ser un desarrollo tendiente a mejorar su calidad y rendimientos.

#### *Ladrillos de estiércol*

Las vacas californianas son el más reciente recurso natural que se está explotando, esta vez por tecnólogos en la Universidad de California en Los Angeles. El Dr. John D. Mackenzie y sus colegas están haciendo ladrillos de estiércol de vaca mezclados con otros materiales de desecho. El resultado: ladrillos y lajas elegantes y baratos más una posible solución al problema de la eliminación del estiércol de vaca en California (*New Scientist* 66:564).

“En California solamente el ganado produce un millón de toneladas de estiércol seco anualmente, equivalente a 100 millones de pies cúbicos en volumen”, dice el Dr. Mackenzie. “Este es un tremendo problema ecológico, porque la cosa no se puede usar económicamente como fertilizante y está contaminando los ríos”.

El proceso de UCLA consiste en pirolizar el estiércol a altas temperaturas para obtener un aceite oscuro, casi como petróleo crudo; una fracción acuosa que contiene amoníaco y otros compuestos nitrogenados, que otros científicos están evaluando como posible fertilizante, y finalmente un polvo negro al que Mackenzie llama TCD, “treated cow dung”. El polvo es inerte y sin olor y puede ser mezclado con vidrio, de botellas viejas para hacer ladrillos y espuma de vidrio, o como un sustituto del carbón animal en procesos tales como manufactura de llantas y tintas de imprenta. Ciertamente Mackenzie lleva consigo tarjetas de visita impresas con su propia tinta especial de boñiga de vaca.

El hacer ladrillos con TCD es básicamente similar a hacer pan. Se muelen botellas y otros materiales de desecho, se mezclan con TCD y se cocinan en un horno moderadamente caliente. El TCD funciona como una levadura y los ladrillos

resultantes tienen una calidad esponjosa porosa después de horneados. Pueden ser tan fuertes como ladrillos ordinarios, pesando sólo la mitad.

A pesar de las ventajas obvias de combinar productos de desecho para producir materiales útiles, queda un problema sin resolver. Explica Mackenzie, "No tenemos la organización para recoger el estiércol de vaca, las botellas usadas y la ceniza de carbón".

#### Nuevas publicaciones

*Agricultural Systems.* Con fecha enero de 1976, ha aparecido una nueva revista internacional trimestral, *Agricultural Systems*. Está dedicada a la comprensión, estudio y mejoramiento de los sistemas agrícolas y a diseñar nuevos sistemas. Responde al reconocimiento que existe en los últimos tiempos de que los sistemas agrícolas merecen ser estudiados como un todo, con la intervención de especialistas de diversas ramas y con el uso de una multitud de técnicas, incluso clases de elaboración de modelos y de simulación matemática. Publicarán resultados de estudios de sistemas agrícolas enteros o partes relevantes de ellos, ya sea al nivel del proceso de producción, empresa, finca, agricultura regional o en una base mundial. Estos serán artículos de investigación, de revisión de literatura, estudios de casos, reseñas de libros e informes de reuniones. El editor es C. R. W. Spedding, autor cuyo reciente libro, "The biology of agricultural systems", es comentado en este número de *Turrialba* (Vol. 26, p. 100), y quien es autor de un artículo en este primer número de *Agricultural Systems*, sobre la experimentación en sistemas agrícolas. Otros artículos tratan de la economía de la investigación de sistemas, por J. L. Dillon (actualmente en Fortaleza, Brasil); del manejo de los sistemas de información para el agricultor individual por M. J. Blackie; sobre CORNMOD, un simulador dinámico de la producción de maíz y otros más. Para mayor información se puede escribir a la firma editora: Applied Science Publishers Ltd., 22 Ripleside Commercial Estate, Barking, Essex, Inglaterra. La suscripción anual es de £15.

*Aquatic Botany.* Esta nueva revista científica internacional contiene estudios fundamentales sobre estructura, función dinámica y clasificación de ecosistemas acuáticos dominados por vegetales. Es también un foro para la investigación aplicada a plantas acuáticas, lo que incluirá las consecuencias de la perturbación de los ecosistemas acuáticos (como trasplantes, influencia de herbicidas, contaminación, control biológico, pastoreo y enfermedades), así como también la utilización de plantas acuáticas, conservación de recursos y aspectos de producción y descomposición. No se incluyen artículos sobre fitoplancton. Publicada por la firma Elsevier, de Amsterdam, la dirección es: The Editorial Office, "Aquatic Botany", P.O. Box 330, Amsterdam, Holanda. En los tres números que hemos revisado, hay dos artículos sobre lugares al sur de Estados Unidos, en este hemisferio; uno sobre biomasa de la población de las angiospermas marinas del noroeste cubano, de René J. Buesa, y otro sobre zonificación de algas en la zona coralífera de Curazao.

*ARC Research Review.* El Agricultural Research Council ha lanzado a la circulación el *ARC Research Review*, revista que aparecerá tres veces al año. Su propósito es llevar a la atención del público una selección de informes de investigación en progreso de los proyectos operados por el ARC, para alcanzar así un público más amplio y en una forma más accesible

que la expuesta en las revistas científicas o en los informes anuales del Council o de los Institutos que lo forman. El primer número, que tiene fecha de marzo de 1975, tiene artículos sobre control químico de los nematodos císticos de la papa, la inoculación del trébol blanco, la evaluación de los alimentos del ganado, los problemas de la vacunación y la estructura de los virus, los verracos híbridos, y la cosecha mecánica de la grosella negra. Para mayor información se puede escribir a G. F. Look, Agricultural Research Council, 160 Great Portland Street, London W1N 6DT.

*Journal of Development Economics.* Esta es una nueva revista trimestral que trata de todas las ramas de la economía relacionadas al estudio del desarrollo. El Vol. 1, N° 2 (Setiembre 1974) tiene artículos sobre políticas a corto plazo en economías abiertas, semindustrializadas (Taylor), modelos en el sector agrícola en economías en desarrollo (Yotopoulos y Law), costo y composición de las exportaciones de India (Staelin), y sustitución de factores, ex ante y ex post (Winston), así como también una reseña de un libro. Publicado por North Holland Publishing Company, Journal Division, P. O. Box 211, Amsterdam, Holanda. Suscripciones individuales a 12 dólares, e institucionales a 33 dólares, por año.

*Páginas de Contenido.* El Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), en Cali, Colombia está publicando una revista mensual, *Páginas de Contenido*, que presenta tablas de contenido de aquellas revistas que tratan sobre yuca, frijol, maíz y arroz, cultivos en los que trabajan los técnicos del CIAT. Esta limitación, anunciada en la presentación, felizmente no es cumplida por lo que ganan sus lectores, pues en el número de enero de 1976, que tenemos a la mano, hay tablas que no tienen artículos sobre estos cuatro cultivos, como los de *Geoderma*, *Hilgardia*, *Cenicafé*, y otros.

*Seed Research.* El Tercer volumen de esta revista ha aparecido en 1975, publicada por la Indian Society of Seed Technology. De periodicidad semestral, la dirección es: Indian Agricultural Research Institute, New Delhi 110012, India.

*Biogimicheskaya Khimiya.* Esta es una publicación mensual de la Academia de Ciencias de la URSS, iniciada en 1975, que se ocupa de la química de compuestos orgánicos relacionados con el metabolismo. Incluye esto a biopolímeros (proteínas, ácidos nucleicos, lípidos), reguladores de bajo peso molecular (hormonas, vitaminas, coenzimas, antibióticos), y sustancias usadas en modelos de compuestos naturales biológicamente activos. El editor es Yu. A. Ovchinnikov, y la dirección es Izdatel'stvo Nauka, Moscú, Rusia.

*International Journal of Zoonoses.* Editado por el Laboratorio Internacional de Zoonosis, con sede en Taipei, Taiwan (Formosa), ha iniciado desde 1974 la publicación de una revista semestral, *International Journal of Zoonoses*. Su editor es E. Ryu.

*El CIMMYT Hoy.* Esta nueva serie del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo ha aparecido en 1975. Cada número está dedicado a un tema específico, presentado en forma exhaustiva pero sencilla, formando un conjunto instructivo de gran utilidad. Todas las ilustraciones, incluso los gráficos, están a colores, y cada número tiene 16 páginas. El primer número trata del maíz de alta calidad proteínica y está escrito por Tony Wolff; el segundo, sobre trigo duro, nueva era para un cultivo antiguo, está escrito por Steven A. Breth.

*Revue d'Agriculture.* La Facultad de Agronomía y de Medicina Veterinaria, en Damien, Haití ha iniciado en 1975 la publicación de una revista trimestral, titulada *Revue d'Agriculture*. El primer número, de fecha abril-junio, tiene artículos sobre la eficacia de la producción del sorgo de grano; el rol de la extensión en el desarrollo de la agricultura, y las características fitotécnicas de 16 líneas de frijol. Tiene también una comunicación corta sobre un variante de frijol de tres cotiledones y tres hojas primarias. El segundo número, de junio-agosto (*sic*) tiene artículos sobre plantas oleaginosas en Haití; agricultura y economía haitiana; el distemper o enfermedad de Carré; la relación hombre-tierra cultivada. La revista es dirigida por Ariel Azael y J. E. Alexis, y la dirección es FAMV, Damien, Haití.

*Pensamiento Económico* Es el órgano oficial del Colegio Hondureño de Economistas (Segunda Etapa), cuyo primer número apareció en enero-marzo de 1975. El segundo número, de abril-junio de 1975, tiene artículos sobre un viaje a Corea del Norte; impacto económico del alza de precios del petróleo; desarrollo bancario en América Latina. La mayor parte la ocupan una serie de documentos sobre los enclaves bananeros en Honduras. El director es Carlos Gustavo Villela y el subdirector, Hernán Rodríguez. La revista no indica su dirección postal.

*Journal of Chromatography Library* De periodicidad irregular, publicada por Elsevier, Amsterdam, el segundo número, de 1975, trata de extracción de cromatogramas.



# Partenina, achilina y eugarzasadina tres nuevos inhibidores lactónicos del desarrollo vegetal\*

M ROJAS GARCIDUEÑAS, X. A DOMINGUEZ\*\*

## ABSTRACT

*Experimental results of the inhibitory activity of three new lactones on plant growth are presented. The lactones are partenine, achylline (sesquiterpenlactones), and eugarzasadine (a diterpenlactone). This activity includes inhibition of radicle development in germinating seeds and embryos of several plants cultured in vitro. Growth was also inhibited in Hoagland solution and the respiration rate was depressed. Their action seems to be on cellular division, not on their elongation — The authors.*

### Introducción

LOS inhibidores del desarrollo se han convertido en uno de los tópicos de mayor interés en la fisiología vegetal. La revisión del tema por Kefeli y Kadyrov (5) cita 128 trabajos; en los cuatro años siguientes han aparecido muchos más

La partenina es una sesquiterpenlactona aislada, entre otras especies, de la "amargosa", *Parthenium hysterophorus* (2), y de la cual se ha informado su actividad inhibitoria en una breve nota (8) y en un congreso (9); el presente trabajo comunica experimentos posteriores. La achilina es también una sesquiterpenlactona presente en varias especies, aislada en el caso presente de *Artemisia indoviciana* (1); su actividad inhibitoria ha sido someramente informada en un congreso (9). La eugarzasadina es una diterpenlactona aislada e identificada por Domínguez *et al.* (3) en la "verbena", *Teucrium cubense*, el presente es el primer informe de su actividad fisiológica

### Metodología general

En las tres lactonas estudiadas se siguió una metodología general que incluyó todos o varios de los siguientes estudios:

#### *Germinación y principios del desarrollo*

En las pruebas preliminares se colocaban semillas en cajas de Petri con papel filtro humedecido con las soluciones de prueba. En las siguientes pruebas se colocaban las semillas en agar según la técnica de Jones *et al.* (4).

#### *Desarrollo de embriones in vitro*

Para evitar la posible interferencia de sustancias presentes en los cotiledones, se efectuaron pruebas cultivando embriones siguiendo las técnicas usuales (12).

#### *Absorción radical y transporte*

Se germinaron semillas en caja de Petri y cuando la radícula tenía 3 cm se llevaron a frascos con solución Hoagland al medio adicionada con las sustancias de prueba. Allí se dejaban desarrollar el tiempo suficiente para observar los posibles efectos.

\* Recibido para la publicación el 18 de agosto de 1975

\*\* Departamento de Biología y Departamento de Química, respectivamente, Instituto Tecnológico de Monterrey, Sucursal de Correos "J", Monterrey, N. L., México

### Absorción foliar y transporte

Las plántulas con raíz de 3 cm eran transferidas a frascos con solución Hoagland al medio dejándose desarrollar hasta el inicio de la segunda hoja verdadera; entonces se aplicaban las sustancias de prueba a las hojas cotiledonares observándose los efectos posteriores.

### Observaciones histológicas

Se germinaron semillas en presencia de las soluciones de prueba, se cortaron las radículas y se seccionaron longitudinalmente con micrótopo previa inclusión en parafina.

### Efectos en la respiración

Se colocaron semillas en papel filtro impregnado con las soluciones de prueba y se dejaron 12 hrs para que las sustancias se absorbieran y el metabolismo se activara. Luego se hicieron respirar en presencia de Na OH 0,1N y se cuantificó la respiración por titulación con HCl, 0,2N.

### Resultados experimentales

#### Partenina

**Desarrollo embrionario.** Las pruebas con semilla se efectuaron según la técnica de Jones *et al.* (4). Se observó que la partenina inhibió el crecimiento del frijol en 50 por ciento pero en maíz solamente 10 por ciento; el 2,4-D usado para comparación tuvo un efecto mucho más enérgico y afectó también la germinación, lo que no hizo la partenina. En las pruebas con embriones el crecimiento de la radícula y del hipocotilo fueron muy deprimidos. Los resultados se encuentran en el Cuadro 1.

**Análisis histológico.** Se hicieron secciones longitudinales de radículas de 5 días de germinadas. Las células tratadas con partenina fueron un poco más largas que las

Cuadro 1.—Desarrollo de la radícula en semillas de maíz (*Zea mays*) y frijol (*Phaseolus vulgaris*) y en embriones in vitro de frijol (Promedios de 12 repeticiones).

Especie	Tratamiento ppm	Semillas peso raíz mg	Embriones	
			Raíz mg	H. hypocotilo mg
Frijol	Agua	206	138	258
	Partenina 100	113	78	65
	2,4-D 100	47	—	—
Maíz	Agua	107	—	—
	Partenina 100	91	—	—

Cuadro 2.—Tamaño y número de células en raíces de maíz (*Zea mays*) y frijol (*Phaseolus vulgaris*) desarrolladas en contacto con soluciones de partenina y medidas a los 5 días de la germinación.

Sección de la raíz	Partenina ppm	Longitud y número de células			
		Maíz		Frijol	
		Longitud $\mu\text{m}$	Núm.*	Longitud $\mu\text{m}$	Núm.*
Apical	0	7,8	73	8,2	72
	50	12,1	65	9,5	65
	100	15,9	58	11,0	65
Media	0	8,1	70	15,0	45
	50	11,1	45	20,3	35
	100	17,7	45	24,6	29
Basal	0	18,0	40	27,5	28
	50	17,1	43	32,4	20
	100	25,2	32	48,3	18

\* Indica el número de células en una hilera en el campo microscópico.

tratadas con agua; puesto que la longitud de las raicillas crecidas en partenina era menor que las crecidas en agua, es obvio que el número de células en una hilera de la base al ápice debe ser menor en las raicillas tratadas con partenina. Esto se demostró contando las células en una hilera. Los resultados se dan en el Cuadro 2.

**Efecto en la respiración.** Se usaron 5 g de semilla que se dejaron respirar durante 13 horas en presencia de 50 cc de NaOH 0,1N. Los resultados se encuentran en la Fig 1 donde se ve que las semillas tratadas con partenina mostraron una tasa de respiración, medida por el  $\text{CO}_2$  exhalado, menor que las semillas no tratadas, siendo el efecto más notable en frijol.

#### Achilina

**Desarrollo embrionario.** Se efectuaron dos experimentos independientes por el método de semillas en agar. Como se ve en la Fig 2 la achilina deprimió el crecimiento en todos los casos pero el efecto fue más notable en trigo.

**Absorción radical y transporte.** Los resultados se concentran en el Cuadro 3. La concentración crítica parece ser de 100 ppm y los efectos en trigo son más enérgicos que en tomatillo. Es interesante notar que hubo inhibición del desarrollo del tallo aunque este órgano no estaba en contacto con la achilina, lo que puede interpretarse como signo de transporte apical de la sustancia.

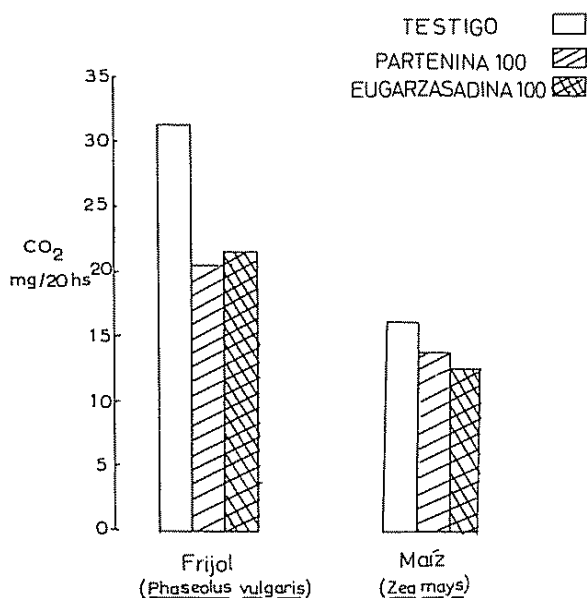


Fig. 1—CO<sub>2</sub> (mg) expelido en 13 hs por 10 g de semilla tratada con diversas dosis de partenina.

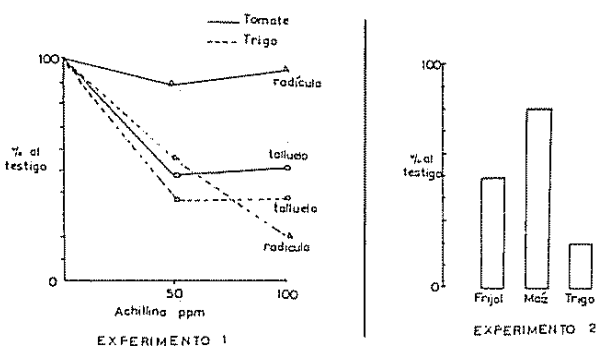


Fig. 2—Efecto de la achilina en el desarrollo de la radícula en semillas de diversas especies. Datos en por ciento al testigo

**Absorción foliar.** Se efectuaron pruebas con soluciones de 0, 50 y 100 ppm de achilina. No se obtuvieron diferencias entre plantas tratadas y no tratadas.

**Análisis histológico.** Se hicieron secciones longitudinales en radículas de 7 días de germinadas. Los resultados fueron similares a los encontrados en partenina, pero con achilina la reducción en el número de células en una hilera fue de 15 por ciento en promedio con respecto a las radículas crecidas en agua.

**Efecto en la respiración.** Se usaron 5 g de semilla que se dejaron respirar 20 hr en presencia de 50 cc NaOH 0,1N. Se observó que la solución de 100 ppm

Cuadro 3.—Efecto de la achilina en el desarrollo de plántulas de tomateo (*Lycopersicon esculentum*) y trigo (*Triticum vulgare*) en solución Hoagland adicionada de achilina. (Promedios de 10 repeticiones)

Especie	Achilina	Incremento en longitud en 10 días:	
		Radícula mm	Tallo mm
Tomatero	0	13,0	12,4
	50	11,7	11,3
	100	9,1	10,4
Trigo	0	58,6	96,0
	50	55,4	75,6
	100	2,8	33,7

de achilina determinó un descenso en la tasa de respiración, medida por el CO<sub>2</sub> exhalado, de 22 por ciento en frijol.

#### Eugarzasadina

**Desarrollo embrionario.** Se efectuaron pruebas con semillas en agar y con embriones in vitro. La eugarzasadina a 100 ppm determinó inhibición del desarrollo como se vé en los resultados expresados en el Cuadro 4

Cuadro 4.—Desarrollo embrionario en frijol (*Phaseolus vulgaris*), trigo (*Triticum vulgare*) y lenteja (*Lens esculenta*) en semillas germinadas en agar y embriones in vitro. Promedios de 12 repeticiones.

Especie	Eugarzasadina ppm	Desarrollo raíz mg	Notas
Frijol (semilla)	0	3495	Normal; tallos verdes
	50	1160	Clorosis; pocas o ninguna raíz secundaria
	100	646	
Trigo (semilla)	0	2430	Normal
	50	430	No desarrolla hojas
	100	82	No desarrolla hojas
Frijol (embrión)	0	1297	Raíces adventicias y secundarias.
	50	630	
	100	524	Raíz muy corta y gruesa y no ramificada (recuerda síntomas de 2,4-D). Clorosis

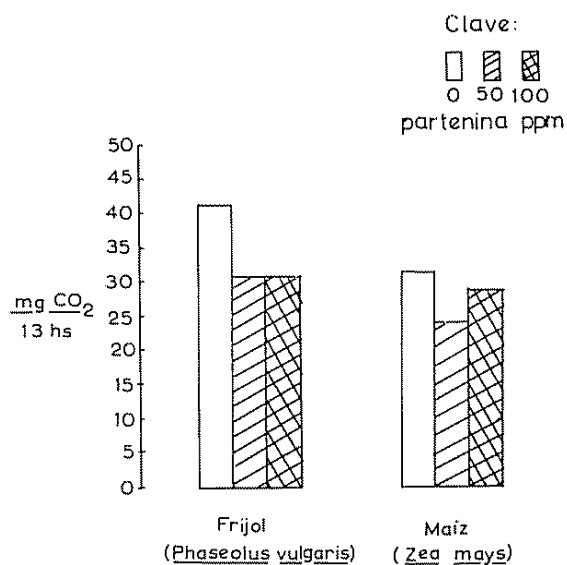


Fig 3.—CO<sub>2</sub> expelido en 20 hs por 10 g de semilla tratada con dos compuestos lactónicos

**Efecto en la respiración** Se efectuaron pruebas con 10 g de semilla que se dejó respirar en presencia de NaOH 0,1N después de haber absorbido eugarzasadina y partenina, para fines de comparación, a 100 ppm durante 12 horas. Ambas lactonas deprimieron la tasa de respiración, medida por el CO<sub>2</sub> exhalado, pero la eugarzasadina actuó más enérgicamente que la partenina. En ambos casos parece haber un efecto diferencial según las especies. Los resultados se encuentran en la Fig 3.

#### Discusión y conclusiones

La eugarzasadina es una norditerpenlactona aislada e identificada muy recientemente (3); los experimentos efectuados presentan evidencia de que posee actividad inhibitoria del desarrollo radicular y de la respiración en varias especies. Dentro del grupo de las norditerpenlactonas se han encontrado otros inhibidores de similar actividad, como las podolactonas (10), las momilactonas (6) y la vernolepina (11).

La partenina y la achilina son sesquiterpenlactonas de cuya actividad inhibitoria se habían dado informes preliminares (8, 9). Los experimentos efectuados confirman la actividad inhibitoria en el desarrollo de la raíz en semillas, embriones y plántulas; presentan evidencia de inhibición de la respiración, y parecen indicar que su efecto es sobre la división celular y no sobre el alargamiento.

Es muy sugestivo el hecho de que la partenina tenga una gran similitud estructural con la crisartemina, ya que aquella es un inhibidor y la crisartemina un cofactor

estimulante en el proceso de enraizamiento (7). Es también interesante el que estas lactonas, sobre todo la partenina, presenten una acción diferencial según las especies, consistente en las diversas pruebas efectuadas.

#### Agradecimientos

Los autores desean agradecer la colaboración prestada por las siguientes personas: Lydia Lozano (investigación sobre partenina); Aracelia Rodríguez y E. Canseco (investigación sobre achilina); Hortensia Cantú (investigación sobre eugarzasadina). Todas ellas de la Facultad de Biología, Universidad Autónoma de Nuevo León (México).

#### Literatura citada

1. DOMINGUEZ, X. A y CARDENAS, E. Achilline and the acetyl matricarin from the *Artemisia* species. Phytochemistry (en prensa).
2. ——— y SIERRA, A. Isolation of a new diterpene alcohol, parthenin from *Parthenium hysterophorus*. *Planta Medica* 18:275-277 1970.
3. ——— et al. Estructura de la eugarzasadina, una nueva diterpenlactona aislada del *Tencrium cubense*. *Revista Latinoamericana de Química* 5:225-229 1974.
4. JONES, R. L.; METCALF, T. P y SEXTON, W. A. Crecimiento de las raíces. Método de superficie de agar. In *Métodos para el estudio de hormonas vegetales y sustancias reguladoras del crecimiento*. J. W. Mitchell y G. A. Livingstone, eds. México, Trillas, 1973. pp 91-92.
5. KEFELI, V. I y KADYROV, S. C. Natural growth inhibitors. Their chemical and physiological properties. *Annual Review of Plant Physiology* 22:185-193 1971.
6. KATO, T. et al. Momilactones, growth inhibitors from rice (*Oryza sativa*). *Tetrahedron Letters* 39:3861-3864 1973.
7. OZAWA, T., SUZUKI, A y TAMURA, S. Isolation of chrysartemin A and B as rooting cofactors in *Chrysanthemum morifolium*. *Agricultural and Biological Chemistry* 35:273-278 1971.
8. ROJAS GARCIDUEÑAS, M. et al. New growth inhibitors from *Parthenium hysterophorus*. *Revista Latinoamericana de Química* 3:52-53 1972.
9. ——— et al. Nuevos inhibidores del desarrollo vegetal. Compendios V Simposio Latinoamericano de Fisiología Vegetal (Maracay, Venezuela). 1974.
10. SASSE, J. M. et al. Chemistry and biological action of podolactones and other inhibitors of plant growth. In "Plant growth substances 1970". Berlín, Springer, 1972. pp 302-305.
11. SEQUEIRA, L. et al. Vernolepin: A new reversible plant growth inhibitor. *Science* 161:789-798 1968.
12. WHITE, P. R. The cultivation of animal and plant cells. Nueva York, Ronald Press, 1954.

# Photochemical activities of chloroplasts from plants with and without bundle sheath in leaves<sup>\*1/</sup>

V. S. R. DAS\*\*, K. R. RAO\*\*, G. SUDHAKARA RAO\*\*\*, N. MALAKONDAIAH\*\*

## COMPENDIO

*Se escogieron veinte especies tanto monocotiledoneas como dicotiledoneas y se investigó su anatomía foliar. Las especies estudiadas se agruparon según la presencia o ausencia de la vaina de los haces vasculares en las hojas. Se determinaron la actividad de la reacción Hill y las actividades de fosforilación cíclica y no cíclica de los cloroplastos aislados de estos dos grupos de plantas. Se observó que los cloroplastos de plantas con vainas de los haces en las hojas mostraron actividades fotoquímicas definitivamente más altas que las plantas sin vaina, exhibiendo así una acentuada correlación entre la actividad de los cloroplastos y las características anatómicas. — Los autores.*

### Introduction

It is fairly established that species with  $C_4$ -dicarboxylic acid pathway of photosynthesis (4) exhibit a distinctive type of leaf anatomy characterized by the presence of chlorenchymatous bundle sheath (9). Plants lacking such an anatomical characteristic possess the Calvin type  $C_3$  photosynthesis. Of these two types of plants, the former are known to be photosynthetically more efficient than the latter. Conflicting reports, however, appeared recently on the photochemical properties of chloroplasts isolated from plants of the  $C_4$  type. Chen *et al.* (3) showed that chloroplasts of Bermuda grass, a plant with high capacity for

photophosphorylation, belongs to the high photosynthetic group of plants. Contrary to this finding, Hew and Gibbs (5) reported results with chloroplasts isolated from maize, sugarcane and sorghum and observed that their reaction were very similar to those from plants like spinach.

The present finding concerns a survey of the photochemical activities of chloroplasts from twenty species of plants with and without bundle sheath in the leaves.

### Materials and methods

The plants selected for the investigation were as follows: *Eleusine coracana*, *Hordeum vulgare*, *Pennisetum typhoideum*, *Pennisetum purpureum*, *Setaria italica*, *Oryza sativa*, *Sorghum bicolor*, *Saccharum officinarum*, *Cenchrus ciliaris*, *Musa paradisiaca*, *Dracaena ternstroemia* and *Phoenix sylvestris* of the monocotyledonous families. From the dicotyledonous families those selected were: *Polyalthia longifolia*, *Arachis hypogea*, *Helianthus annuus*, *Capsicum annuum*, *Nicotiana tabacum*, *Gomphrena decumbens*, *Chenopodium amaranticolor* and *Piper nigrum*. Leaves from all the crop plants were cultivated under field conditions in the nearby Agricultural Experiment Station. Other plant materials were collected from the garden of this department.

Fully expanded leaves were ground in a pre-cooled mortar using M/15 sucrose phosphate buffer at pH 7.3

\* Received for publication February 26th, 1975.

<sup>1/</sup> Paper presented at the Fifty-eighth Indian Science Congress in a special symposium "Form, Structure and Function" held at Bangalore January 1971. Approved for publication by the Indian Science Congress.

\*\* Department of Botany, S. V. University, Tirupati Andhra Pradesh 517502, India

\*\*\* Present address: Division of Plant Physiology, Central Coffee Research Institute, Coffee Research Station P. O., Chikmagalur District, Karnataka 577117, India.

Table 1—Hill reaction activity\*. Decrement of absorbancy/mg chlorophyll

Plants with bundle sheath		Plants without bundle sheath		
1	<i>E. coracana</i> . . . . .	63.34 ± 6.34	<i>P. longifolia</i> . . . . .	10.97 ± 0.17
2	<i>H. vulgare</i> . . . . .	30.63 ± 3.28	<i>P. sylvestris</i> . . . . .	10.92 ± 0.72
3	<i>P. typhoideum</i> . . . . .	27.91 ± 1.74	<i>M. paradisiaca</i> . . . . .	7.38 ± 0.63
4	<i>P. purpureum</i> . . . . .	20.43 ± 0.43	<i>C. amaranticolor</i> . . . . .	13.31 ± 0.44
5	<i>G. decumbens</i> . . . . .	27.80 ± 0.60	<i>N. tabacum</i> . . . . .	4.92 ± 0.15
6	<i>S. italica</i> . . . . .	25.89 ± 1.22	<i>D. terniflora</i> . . . . .	2.81 ± 0.08
7	<i>O. sativa</i> . . . . .	13.88 ± 0.84	<i>H. annuus</i> . . . . .	12.22 ± 0.34
8	<i>S. bicolor</i> . . . . .	24.96 ± 0.67	<i>P. nigrum</i> . . . . .	7.57 ± 0.36
9	<i>S. officinarum</i> . . . . .	18.12 ± 1.62	<i>A. hypogea</i> . . . . .	7.09 ± 0.50
10	<i>C. ciliaris</i> . . . . .	20.02 ± 0.52	<i>C. annuum</i> . . . . .	10.72 ± 0.22

\* The reaction mixture consisted of the grinding medium, 2.0 ml; 0.1 M KCl, 1.0 ml; 0.1 per cent 2,6-dichlorophenol indophenol, 0.1 ml and chloroplast suspension equivalent to 50 µg chlorophyll. Change in absorbancy was recorded after exposing the tubes to 8 000 lux for 3 minutes.

containing disodium salt of EDTA, final conc.  $2 \times 10^{-3}$  M) and  $MgSO_4$  (final conc.  $1.8 \times 10^{-3}$  M). Class II chloroplasts were prepared from the resultant bric (7). All manipulations during the extraction procedure were carried out in a cold room maintained at 0-2°C.

Hill reaction activity was measured by following the reduction of 2,6-dichlorophenol indophenol (6). Phenazinmethosulphate (PMS) catalyzed cyclic and ferricyanide catalyzed non-cyclic photophosphorylation activities were recorded in terms of radioactivity incorporated into ATP (3).  $ATP^{32}P$  content was assayed according to Arney (1). Chlorophyll content was estimated by the

method of Arnon (2). Light microscopic preparations were done as per the procedure outlined by Johansen (8).

#### Results and discussion

Study of leaf anatomy revealed the occurrence of a distinct bundle sheath separated from the mesophyll tissue in the following species: *E. coracana*, *H. vulgare*, *P. typhoideum*, *P. purpureum*, *O. sativa*, *S. italica*, *S. bicolor*, *S. officinarum*, *C. ciliaris* and *G. decumbens*.

Table 2—PMS-catalyzed cyclic photophosphorylation\*. CPM in thousands/mg chlorophyll.

Plants with bundle sheath		Plants without bundle sheath		
1	<i>E. coracana</i> . . . . .	1,891 ± 222	<i>P. longifolia</i> . . . . .	71 ± 3
2	<i>H. vulgare</i> . . . . .	261 ± 20	<i>P. sylvestris</i> . . . . .	129 ± 15
3	<i>P. typhoideum</i> . . . . .	320 ± 30	<i>M. paradisiaca</i> . . . . .	131 ± 3
4	<i>P. purpureum</i> . . . . .	837 ± 47	<i>C. amaranticolor</i> . . . . .	47 ± 3
5	<i>G. decumbens</i> . . . . .	242 ± 16	<i>N. tabacum</i> . . . . .	103 ± 20
6	<i>S. italica</i> . . . . .	803 ± 6	<i>D. terniflora</i> . . . . .	241 ± 20
7	<i>O. sativa</i> . . . . .	727 ± 112	<i>H. annuus</i> . . . . .	200 ± 11
8	<i>S. bicolor</i> . . . . .	319 ± 20	<i>P. nigrum</i> . . . . .	179 ± 38
9	<i>S. officinarum</i> . . . . .	207 ± 15	<i>A. hypogea</i> . . . . .	109 ± 14
10	<i>C. ciliaris</i> . . . . .	1,468 ± 188	<i>C. annuum</i> . . . . .	25 ± 17

\* The reaction mixture in a total volume of 2.8 ml consisted of 0.01 M Tris HCl pH 8.0, 50 µM  $MgCl_2$ , 2 µM ADP, 1 µM inorganic phosphate, 1 µM PMS, 0.02 µM and chloroplast suspension equivalent to 25 µg chlorophyll. The reaction was started by adding 5 µCi  $^{32}P$  and turning on lights (8,000 lux). The reaction was terminated after 10 minutes of exposure by adding 0.1 ml of 20 per cent TCA.

Table 3.—Ferricyanide-catalyzed non-cyclic photophosphorylation\* CPM in thousands/mg chlorophyll

Plants with bundle sheath		Plants without bundle sheath	
1	<i>E. coracana</i> ..... 2,638 ± 331	<i>P. longifolia</i> ..... 86 ± 6	
2	<i>H. vulgare</i> ..... 376 ± 51	<i>P. sylvestris</i> ..... 156 ± 11	
3	<i>P. typhoides</i> ..... 747 ± 13	<i>M. paradisiaca</i> ..... 142 ± 2	
4	<i>P. purpureum</i> ..... 1,144 ± 81	<i>C. amaranticolor</i> ..... 92 ± 4	
5	<i>G. decumbens</i> ..... 1,017 ± 6	<i>N. tabacum</i> ..... 181 ± 21	
6	<i>S. italica</i> ..... 904 ± 6	<i>D. tenuiflora</i> ..... 311 ± 3	
7	<i>O. sativa</i> ..... 924 ± 2	<i>H. annuus</i> ..... 268 ± 11	
8	<i>S. bicolor</i> ..... 456 ± 49	<i>P. nigrum</i> ..... 252 ± 46	
9	<i>S. officinarum</i> ..... 723 ± 44	<i>A. hypogea</i> ..... 170 ± 10	
10	<i>C. ciliaris</i> ..... 2,191 ± 166	<i>C. annuum</i> ..... 291 ± 3	

\* Additions in reaction mixture were the same as in cyclic photophosphorylation except that 0.2  $\mu$ M ferricyanide was substituted for PMS

There was no differentiation into bundle sheath and mesophyll tissues in *P. longifolia*, *C. amaranticolor*, *P. nigrum*, *N. tabacum*, *C. annuum*, *A. hypogea*, *H. annuus*, *M. paradisiaca*, *P. sylvestris* and *D. tenuiflora*.

Hill reaction activity of chloroplasts from various species studied exhibited a characteristic trend. Chloroplasts from all those plants possessing a bundle sheath in the leaves, irrespective of belonging to monocotyledonous or dicotyledonous groups, showed distinctly higher rates when compared to those from plants without bundle sheath (Table 1). Highest rates were recorded in *E. coracana* and *H. vulgare*.

The activities of PMS catalyzed cyclic photophosphorylation and ferricyanide catalyzed non-cyclic photophosphorylation of chloroplasts are shown in Tables 2 and 3 respectively. Here again the activities of chloroplasts from species with bundle sheath are several times higher than those from plants without bundle sheath.

Thus, the present results show that both Hill reaction and photophosphorylation capacities of chloroplasts from bundle sheath in the leaves are much higher than those from the other group of plants. The higher photochemical activity is presumably related to the greater efficiency in carbon fixation in those plants possessing bundle sheath. These results appear somewhat in contrast to those reported by Hew and Gibbs (5) in as much as the present finding revealed distinct differences in the rates of photochemical properties of chloroplasts from the two groups of plants. Further work on the photochemistry of chloroplasts from the two types of plants is considered to be most useful in seeking an explanation for the differences in the photophysiology between the  $C_4$  and  $C_3$  type of plants.

### Summary

Twenty species of plants belonging to both the monocotyledonous and dicotyledonous groups were chosen and their leaf anatomy was investigated. The species studied were grouped according to the presence or absence of vascular bundle sheath in the leaves. Hill reaction activity and cyclic and non-cyclic photophosphorylation activities of chloroplasts isolated from these two groups of plants were determined. It was observed that the chloroplasts from plants with bundle sheath in the leaves showed distinctly higher photochemical activities than those from plants without bundle sheath, thus exhibiting a striking correlation between the chloroplast activity and anatomical characteristics.

### Acknowledgement

The financial assistance provided to one of us (G.S. Rao) by the Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi through a Senior Research Fellowship is gratefully acknowledged.

### Literature cited

1. ARNEY, S. E. Phosphate fractions in barley seedlings. *Biochemical Journal* 33:1078. 1939.
2. ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24:1-15. 1949.

- 3 CHEN, I. M., BROWN, R. H. and BLACK, C. C. Photosynthetic activity of chloroplasts from Bermuda grass (*Cynodon dactylon* L.) a species with a high photosynthetic activity. *Plant Physiology* 44:649-654. 1969
- 4 HATCH, M. D. and SLACK, C. R. Photosynthetic CO<sub>2</sub> fixation pathways. In Machlis, L., ed. *Annual Review of Plant Physiology*. Palo Alto, California, Annual Reviews Inc, 1970. Vol. 21. pp 141-162
- 5 HEW, C. and GIBBS, M. Light-induced O<sub>2</sub> evolution, triphosphopyridine nucleotide reduction and phosphorylation by chloroplasts of maize, sugarcane and sorghum. *Canadian Journal of Botany* 48:1265-1269. 1970
- 6 JAGENDORF, A. T. and EVANS, M. The Hill reaction of red kidney bean chloroplasts. *Plant Physiology* 32:435-440. 1957
- 7 JAMES, W. O. and DAS, V. S. R. The organization of respiration in chlorophyllous cells. *New Phytologist* 56:325-343. 1957.
- 8 JOHANSEN, D. A. *Plant microtechnique*. New York, McGraw-Hill, 1950. 523 p.
- 9 IREGUNNA, E. B., SMITH, B. N., BERRY, J. A. and DOWNTON, W. J. S. Some methods for studying the photosynthetic taxonomy of angiosperms. *Canadian Journal of Botany* 48:1209-1214. 1970.



# La mineralización del nitrógeno en suelos de cenizas volcánicas de Colombia y su relación con el crecimiento de *Cupressus lusitanica*\* ————— JORGE I. DEL VALLE\*\*

## ABSTRACT

*This research had two objectives: 1) to ascertain if there was any relation between N-mineralized and the site index of Cupressus lusitanica in plantations on volcanic ash soils near Medellin, Colombia, and 2) to study the effect on mineralization of nitrogen of the conventional method of open drying and then wetting again the soil samples*

*Highly significant correlations were found between the site index and the N-mineralized in fresh soil, that were able to explain 58 per cent of the variation in cypress growth when N was presented in kg/ha, and 48 per cent, when presented in ppm. Correlations with dried-wet soil were accordingly lower without signification when N was expressed in ppm. No significant correlations were found between soil site and the variables total-N per cent, organic mater per cent and C/N relation. Drying and wetting the soil increased N mineralization, reaching an average of five times that of soil kept fresh. — The author*

## Introducción

EL ciprés, *Cupressus lusitanica* Mill en zonas montañosas cercanas a Medellín, Colombia, se ha plantado en suelos de cenizas volcánicas con contenidos de materia orgánica y de nitrógeno total bastante altos. A pesar de esto, se han podido comprobar deficiencias de nitrógeno (19, 21, 22) y un crecimiento bastante irregular. Resulta lógico suponer que la mineralización de este elemento no es adecuada, por lo que quizá exista alguna relación entre el crecimiento de ciprés y el N-mineralizado como índice de disponibilidad del nitrógeno para esta especie.

Tal suposición la refuerzan los resultados de una investigación previa en que utilizando tres parcelas se encontró mayor mineralización del nitrógeno a medida que el crecimiento del ciprés mejoraba (21). Uno de

los objetivos fundamentales de esta investigación fue averiguar si se mantiene dicha tendencia, utilizando un mayor número de parcelas y diferentes localidades que cubran un ámbito amplio de crecimiento de *C. lusitanica*. También se estudió el efecto que tiene el secado y posterior rehumedecimiento del suelo en la mineralización del nitrógeno

## Revisión de literatura

Existen muy pocas investigaciones sobre el efecto de la mineralización del nitrógeno en el crecimiento de los bosques. Sólo se hallaron tres investigaciones sobre tal aspecto en la literatura consultada: Tam (17) en Suecia encontró que en tres localidades aumentaba el crecimiento de los bosques a medida que la mineralización del nitrógeno era más activa. Tschinkel registró un caso similar en Colombia (21). Tam (18) y Zöttl y Tschinkel (26) citan investigaciones de Zöttl en las cuales comprobó un aumento en el incremento medio anual de plantaciones de pinos y abetos de Alemania a medida que la mineralización del nitrógeno se incrementaba.

\* Recibido para la publicación el 11 de agosto de 1975

\*\* Universidad Nacional, de Colombia Medellín; Departamento de Recursos Forestales. Apartado aéreo 368, Medellín, Colombia

Con respecto al efecto que tiene el secado y posterior rehumedecimiento del suelo en la mineralización del nitrógeno, se puede afirmar que es conocido, por lo menos, desde los años 20 cuando Gustafson (11) y Lebdjantzev (13) lo investigaron. Puede resumirse indicando que el secado y posterior rehumedecimiento del suelo producen un incremento en la mineralización del nitrógeno con respecto a los suelos que se han conservado frescos. Posteriormente Birch redescubrió el fenómeno (1, 2, 3, 4, 5) y de allí que últimamente se le ha llamado "efecto de Birch". En suelos de cenizas volcánicas se ha estudiado muy poco a pesar de la importancia práctica que en ellos llega a tener. Se pueden citar las investigaciones de Hayashi y Harada (12) en el Japón, de Broadbent y Jackman (8) en Nueva Zelanda y de Bornemisza y Pineda (6) en Costa Rica. Del Valle (23) realizó investigaciones sobre este efecto simultáneamente con la aquí reportada en suelos volcánicos de Colombia: con muestras de suelo de seis localidades seleccionadas se hicieron incubaciones con suelo seco al aire y rehumedecido, y con suelo fresco durante 2, 4, 6, y 8 semanas, determinando el nitrógeno mineralizado en ambos tratamientos. Para todos los períodos de incubación se mineralizó considerablemente más nitrógeno en el suelo secado que en el que se conservó fresco; a las 2 semanas llegó a ser 15 veces mayor y a las 8 semanas 6 veces mayor. También se cultivaron rábanos en suelo secado al aire durante dos semanas y en suelo fresco de tres localidades. Se comprobó que tanto el peso seco total como el de la parte aérea y de la raíz, fueron significativamente mayores al nivel del 1 por ciento en aquellas plantas cultivadas en el suelo secado al aire (23). Una revisión más detallada de este efecto puede consultarse en la investigación mencionada.

#### Material y métodos

##### Suelos y área de estudio

Se utilizó el horizonte A de suelos derivados de cenizas volcánicas clasificados como Distrandept típicos en su mayoría (10) y cultivados con *C. lusitanica*. En el Cuadro 1 se presentan algunas de las características más importantes de estos suelos. El horizonte A tiene valores promedios de profundidad de 23 cm, densidad aparente 0,39 g/cm<sup>3</sup>, N total 0,91 por ciento, M.O. 23,3 por ciento, relación C/N 16 y pH en agua, 5,2. El área de estudio comprende 2 municipios y una Estación Forestal Experimental cercanos a Medellín, cuyos nombres y datos climáticos básicos se dan a continuación:

Municipio o localidad	Precipitación mm	Temperatura °C
1 Estación Forestal Experimental de Piedras Blancas	1600	15
2 El Retiro	2000	16
3 Caldas	2200	18-19

##### Toma de muestras y métodos analíticos

El muestreo se realizó en 22 parcelas permanentes de crecimiento de *C. lusitanica* con un área de 600-800 m<sup>2</sup>. En cada parcela se tomaron los siguientes datos en el suelo:

- 1 Profundidad promedio del horizonte A con base en 50 perforaciones utilizando un barrenos volumétrico.
- 2 Densidad aparente utilizando las 50 muestras del suelo extraídas con el barrenos.
- 3 Aproximadamente 1 a 2 kilos de suelo del horizonte A obtenido de los pasos anteriores.

Como para la mayoría de las parcelas existían datos de otro estudio sobre profundidad del horizonte A y de densidad aparente (19, 21), se utilizaron en este estudio. Sin embargo, para aquellas parcelas en que los valores de densidad aparente aparecían muy bajos, se determinó de nuevo y se halló un promedio con los datos de que se disponía.

El N total se determinó por Kjeldahl; el N inorgánico (NH<sub>4</sub> + NO<sub>3</sub> + NO<sub>2</sub>) según Bremner (7); el pH en agua con relación 1/1; el carbono orgánico total por el método de Walkley y Black (25).

El suelo se incubó a 30°C según el método de Keeney y Bremner (7) con las siguientes modificaciones: 1) El período de incubación de 6 semanas. 2) Se usaron muestras de suelo tanto previamente secadas al aire como frescas. 3) La humedad del suelo incubado a una succión de 1/3 bar. 4) Se controló la humedad pesando diariamente los frascos de incubación y agregando el agua faltante.

##### Crecimiento de *C. lusitanica*.

Como las plantaciones tenían diferente edad (8-20 años), se llevaron todas a la altura que tendrían los árboles dominantes a los 15 años de edad. Con tal fin se utilizó la ecuación de índices de sitio para esta especie y zona desarrollada por Tschinkel (20):

$$\log IS = \log H - 1,80136(1/15 - 1/E)$$

En esta ecuación IS es el índice de sitio, o sea, la altura en metros de los árboles dominantes a los 15 años; H es la altura en metros de los árboles dominantes en cada parcela; E es la edad en años. También este dato se encontraba disponible para la mayoría de las parcelas de otras investigaciones (19).

#### Resultados y discusión

##### Relación entre el índice de sitio y la mineralización del N

En el Cuadro 1 se resume la información obtenida en la presente investigación. Al calcular regresiones utilizando diferentes modelos entre el crecimiento de *C. lusitanica* expresado como su índice de sitio, y las siguientes características del suelo: por ciento N total

Cuadro 1—N-mineralizado durante 6 semanas de incubación en suelos de cenizas volcánicas frescos y tratados por secado-rehumedecimiento bajo plantaciones de *C. Insitánica*, y otras características importantes de los suelos

Municipio o localidad	Finca	Parcela No	Índice de sitio (m/15 años)	Profundidad horizonte A cm	Densidad aparente g/cm <sup>3</sup>	N-total %	M.O %	C/N	pH en agua 1:1	N-mineralizado en 6 semanas			
										ppm		kg/ha	
										Suelo fresco	Suelo seco	Suelo fresco	Suelo seco
Piedras Blancas	Lajas	6	6,5	14,4	0,37	0,77	21,9	16,5	5,3	10	121	5,3	64,7
Piedras Blancas	Vellavista	11	8,2	15,2	0,15	0,87	24,9	16,9	5,1	10	169	6,8	115,6
Piedras Blancas	Verapaz	31	8,3	17,5	0,35	0,92	23,4	14,8	5,0	15	210	9,2	128,6
El Retiro	La Guija	8	8,1	14,8	0,34	0,94	26,1	16,1	5,0	35	191	17,6	96,1
Piedras Blancas	Lajas	4	11,8	25,1	0,34	0,77	26,7	20,2	4,9	53	206	45,2	175,8
Caldas	La Sultana	153	12,0	30,5	0,41	0,92	23,3	14,7	5,0	54	184	67,5	230,0
Piedras Blancas	Lajas	5	12,3	24,7	0,30	0,99	28,7	16,9	5,0	56	198	41,5	146,7
El Retiro	La Guija	32	12,5	21,2	0,34	0,97	26,4	15,8	4,8	41	277	26,6	159,9
Piedras Blancas	Verapaz	15	12,8	28,6	0,37	0,77	21,0	15,9	5,0	17	209	18,0	221,0
Caldas	La Vía	13	13,4	19,1	0,30	0,73	17,6	14,0	5,1	51	218	29,2	124,9
Caldas	La Sultana	PT	13,5	17,7	0,44	0,78	17,9	13,3	5,3	52	178	40,5	138,6
Caldas	Esperanza	49	13,7	31,0	0,30	0,78	18,4	13,7	4,9	26	189	24,2	175,8
Caldas	La Vía	154	14,4	24,4	0,41	0,99	24,6	14,4	5,0	42	174	42,0	171,1
Caldas	La Vía	152	14,5	13,7	0,44	0,67	12,7	11,1	5,1	52	234	31,3	141,0
El Retiro	La Guija	28	14,7	24,2	0,40	1,05	22,8	12,6	5,0	46	100	44,5	96,7
Caldas	La Vía	46	14,9	22,9	0,30	0,94	21,8	13,5	5,1	31	290	21,1	197,5
Piedras Blancas	Lajas	17	15,2	21,6	0,33	0,96	28,0	16,1	4,8	28	178	20,0	127,0
Caldas	La Vía	44	16,3	23,6	0,30	0,95	19,8	12,1	5,0	60	250	42,5	177,0
Piedras Blancas	Verapaz	16	16,9	22,0	0,14	0,84	22,6	15,6	5,1	39	176	40,0	170,4
Piedras Blancas	Lajas	7	17,7	21,2	0,41	0,85	25,0	17,1	5,0	36	185	31,3	161,0
Caldas	Córsica	PT	19,0	22,0	0,43	0,62	12,4	11,6	4,8	49	234	46,3	221,4
Caldas	Córsica	55	20,6	22,1	0,37	0,97	32,1	19,3	5,0	24	188	19,6	153,7
Caldas	Rondalla	53	23,7	24,4	0,43	0,88	16,4	10,8	4,8	41	146	43,0	153,2
Fromedio		—	14,6	22,8	0,39	0,91	23,3	15,6	5,2	40	205	32,0	161,4

PT Parcela temporal

por ciento M.O. y relación C/N, no se pudo evidenciar ningún grado de asociación significativa entre las dos variables.

Por el contrario, al relacionar el índice de sitio con el N-mineralizado surgieron algunas regresiones con coeficientes de correlación altamente significativos, como se puede observar en el Cuadro 2. En todos los casos la función gamma fue la mejor entre seis modelos ensayados. Se concluye de los datos mencionados y del Cuadro 2, que el N-mineralizado en el suelo correlacionó en forma altamente significativa con el índice de sitio cuando este elemento se expresó en concentraciones absolutas, pero cuando se expresó en concentraciones relativas

la correlación fue menor llegando a ser no significativa para el suelo tratado por secado y rehumedecimiento. La interpretación de este cuadro resulta muy interesante por el hecho de que los métodos convencionales de incubación para estudiar la mineralización de la materia orgánica utilizan suelo secado al aire y rehumedecido, expresando luego el elemento en ppm. Aquí se ven en forma clara dos hechos. En primer lugar la expresión del N-mineralizado en kg N/ha, en el cual se toma en cuenta la profundidad del suelo y su masa real por hectárea, es una medida mejor de la disponibilidad de este elemento que cuando se expresa en ppm. A pesar de que en el campo agrícola no son de uso común las uni-

Cuadro 2—Coeficiente de correlación entre el índice de sitio y el N-mineralizado tanto en suelo conservado fresco como secado y rehumedecido, expresado en concentraciones absolutas y relativas

Variable independiente	Coeficiente de correlación (r)	
	kg/ha	ppm
N-mineralizado en suelo conservado fresco	0,762**	0,692**
N-mineralizado en suelo seco y rehumedecido	0,699**	0,278 n.s

\*\* Significativo al nivel del 1 por ciento.  
n.s No significativo.

dades absolutas, en el campo forestal se han usado con más frecuencia. A este respecto Fassbender y Tschinkel (10) han comprobado recientemente en las mismas localidades en que se realizó este estudio, que las expresiones absolutas de fosfatos de Al, K y Mg cambiables correlacionaron mejor con el crecimiento de *C. lusitanica* que las relativas. El segundo hecho para destacar es el efecto desfavorable del secado-rehumedecimiento en las correlaciones. Como se verá más adelante, es bien sabido que el secado del suelo incrementa la mineralización del N; sin embargo, aún así, se pensó inicialmente que podría haber buena correlación con el crecimiento. A la luz de los resultados aquí obtenidos se puede concluir que el N-mineralizado en el suelo pretratado por secamiento, es un índice de la disponibilidad del N menos adecuado que cuando el suelo se conserva con la humedad del campo.

En la Fig. 1 se trazó la mejor regresión obtenida que alcanzó a explicar el 58,1 por ciento de la variación en el índice de sitio, lo que puede considerarse como muy satisfactorio para este tipo de estudios. Entre varios factores de crecimiento tanto físicos como químicos estudiados por Tschinkel (19, 21) y por Fassbender y Tschinkel (10) en estas plantaciones, ningún factor o conjunto de ellos alcanzó a igualar la correlación aquí obtenida, siendo la mejor, entre las registradas por estos autores, la que relacionó el índice de sitio como variable dependiente con los fosfatos de Al, el K cambiante y el Mg cambiante expresados en kg/ha como variables independientes, la cual explicó el 52,2 por ciento de la variación en el crecimiento del ciprés. Debe tenerse en cuenta que el crecimiento de una planta depende de la interrelación de múltiples factores, y que además, la determinación del índice de sitio en sí conlleva su propia fuente de error siendo como dicen otros autores "una expresión simplificada del crecimiento del rodal" (10).

Al estudiar la asociación entre el por ciento N-total con las diferentes formas de expresar en N-mineralizado no se halló ninguna correlación significativa o cercana o serlo. Este resultado junto con la no existencia de correlación entre índice de sitio y el por ciento N total,

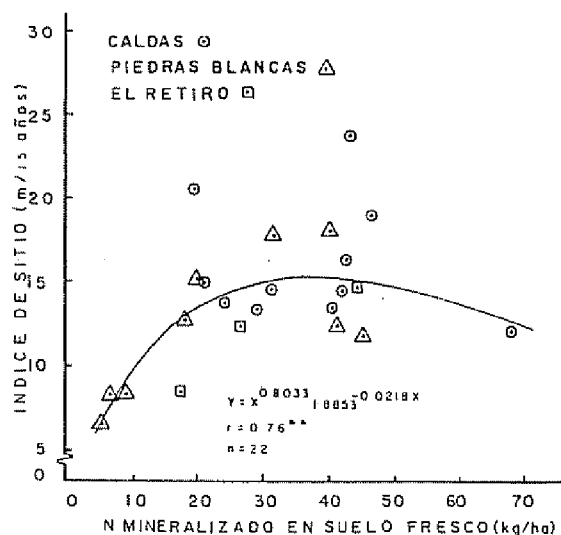


Fig. 1.—Relación entre el índice de sitio de *C. lusitanica* y el N mineralizado durante 6 semanas utilizando suelo fresco

indican que el contenido total de este elemento no sirve dentro del área estudiada como índice de disponibilidad.

Como se puede advertir en el Cuadro 1, los porcentajes de N total son sumamente altos en todas las parcelas, variando desde 0,62 hasta 1,05 por ciento, con promedios de 0,91 por ciento; los contenidos de M.O. son también muy altos alcanzando un promedio de 23,3 por ciento en una profundidad promedio del horizonte A de 23 cm. Estos datos, además de las conocidas deficiencias de N en las plantaciones de *C. lusitanica*, son síntomas de una baja descomposición y mineralización de la M.O. llegando a ser un factor limitante para el crecimiento de las plantaciones, ya que se encuentra bien establecido que el alofán forma complejos muy estables con la M.O. a través del Al, ejerciendo un efecto detrimental en la mineralización del N (6, 8, 24).

En el Cuadro 3 se ha calculado el promedio de índice de sitio y de nitrógeno mineralizado en suelo fresco para las tres localidades. Al comparar estadísticamente estos tres promedios por medio de la prueba de Duncan no se hallaron diferencias significativas entre ellos, aunque la comparación entre Piedras Blancas y Caldas fue casi significativa. La no existencia de significación a

Cuadro 3—Promedios de índice de sitio y de N-mineralizado en suelo fresco por localidades

Municipio	Índice de sitio (m/15 años)	N-mineralizado suelo fresco (kg/ha)	Número de parcelas
Piedras Blancas	12,2	24,14	9
El Retiro	11,9	29,57	3
Caldas	17,6	34,19	10

pesar de que los promedios son sustancialmente diferentes, se debe a que la variancia dentro de las localidades es muy alta. Esto es un reflejo de la selección de las parcelas puesto que se trató de que cubrieran en cada localidad un ámbito amplio de índices de sitio; si se hubieran seleccionado en cada localidad parcelas de crecimiento promedio, muy probablemente la diferencia en el N-mineralizado dentro de las localidades habría sido menor y, por lo tanto, los promedios significativos. Se nota que los promedios para Caldas son superiores a los de las otras localidades; otras experiencias han demostrado que también la concentración de N en el follaje de las plantaciones de *C. lusitana* de Caldas es superior al de las otras localidades (22), justificándose y complementándose este hecho con base en los resultados aquí alcanzados.

Quizá la razón por la cual los suelos de Caldas mineralizan más N que las otras dos localidades se debe a que está sometida a un clima más húmedo y cálido.

#### *Efecto del secado-rehumedecimiento en la mineralización del N*

El Cuadro 1 muestra que para todas las parcelas hubo un gran incremento en la mineralización del N cuando el suelo fue tratado por secado al aire para luego rehumedecerlo con el fin de hacer las incubaciones, con respecto al suelo que se conservó fresco, llegando a ser cinco veces mayor en promedio. Como los suelos en el campo nunca llegan a secarse tanto como cuando se exponen al aire en un invernadero, especialmente en zonas húmedas, se puede concluir que en la mayoría de las investigaciones sobre este aspecto en las cuales no se ha tomado en cuenta el "efecto de Birch", se está sobreestimando la mineralización del N.

Se ha visto que el mencionado efecto aumenta con el contenido de M.O. (3, 4) y con el N total (9). Por lo tanto, es de esperarse que esta sobreestimación sea mayor en los suelos tropicales y en los de cenizas volcánicas. Volviendo sobre un resultado ya discutido anteriormente de que la mineralización en el suelo fresco correlacionó mejor con el crecimiento que en el previamente secado, parece no haber justificación para utilizar suelo seco al aire, conservándose sólo la ventaja de una mayor comodidad en el trabajo en detrimento de un mayor rigor y exactitud. Cabe aquí especular que el efecto de las quemas en el incremento de las cosechas, atribuido al efecto de los nutrientes que quedan en las cenizas, puede en parte también deberse al incremento de la mineralización del N al rehumedecerse el suelo secado por el calor; esta es una hipótesis que valdría la pena investigar. Al menos a nivel de invernadero varias investigaciones han indicado que el secado y rehumedecimiento del suelo incrementan el rendimiento (1, 13, 23), constituyéndose en una fuente de error al querer aplicar estas investigaciones en el campo. También en el África se ha encontrado que este efecto es el responsable del aumento del rendimiento después de un período seco y al comienzo de las lluvias (1, 4, 9, 14, 16).

Aunque en la actualidad no existe una explicación contundente sobre las causas del "efecto de Birch", parece que está relacionado con una alta actividad microbiana asociada con la fase juvenil del desarrollo de la población microbiana, actividad que declina cuando la población envejece (4). Birch (2, 3, 4) también considera que al secar y calentar un suelo pueden ocurrir fragmentación o aumento de la porosidad del gel, y que al rehumedecerse el suelo parte de la materia orgánica entra en solución. En ambos casos el material queda más expuesto al ataque de los microorganismos.

#### *Resumen*

Dos fueron los objetivos fundamentales de esta investigación: 1) Averiguar si existía alguna relación entre el N-mineralizado y el índice de sitio de *Cyperus lusitana* en plantaciones sobre suelos de cenizas volcánicas cercanas a la ciudad de Medellín, Colombia. 2) Estudiar el efecto que el método convencional de secar el suelo al aire y luego rehumedecerlo tiene en la mineralización del nitrógeno en estos suelos.

Se encontraron correlaciones altamente significativas entre el índice de sitio y el N-mineralizado en suelo fresco, que alcanzaron a explicar el 58 por ciento de la variación en el crecimiento del ciprés cuando el N se expresó en kg/ha y, el 48 por ciento cuando se expresó en ppm. Las correlaciones con el suelo tratado por secado-rehumedecimiento fueron correspondientemente inferiores llegando a ser no significativas cuando se expresó el N en ppm.

No se hallaron correlaciones significativas entre el índice de sitio y las siguientes variables: por ciento N total, por ciento de M.O. y relación C/N.

El secado-rehumedecimiento del suelo aumentó la mineralización del N alcanzando a ser en promedio 5 veces mayor que en el suelo conservado fresco.

#### *Literatura citada*

- 1 BIRCH, H. F. y EMECHEBE A. M. The effect of soil drying on millet. *Plant and Soil* 21:333-335. 1965.
- 2 ————. Nitrification in soils after different periods of dryness. *Plant and Soil* 12:81-96. 1960.
- 3 ————. Soil drying and fertility. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 37:1-10. 1960.
- 4 ————. Further observations on humus decomposition and nitrification. *Plant and Soil* 11:262-286. 1959.
- 5 ————. The effect of soil drying on humus decomposition and nitrogen availability. *Plant and Soil* 10:9-19. 1958.
- 6 BORNEMISZA, E. y PINEDA, R. Minerales amorfos y mineralización del nitrógeno en suelos derivados de cenizas volcánicas. In IICA, Panel sobre Suelos de Cenizas Volcánicas de América Latina. Turrialba, Costa Rica, 1969, B 7, 1-7.

- 7 BREMMER, J. M. Nitrogen availability indices. In Black, C. A., ed. *Methods of Soil Analysis*. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, 1965. pp. 1179-1232.
- 8 BROADBENI, F. E., JACKMAN, R. M. y McNICOLL, J. Mineralization of carbon and nitrogen in some New Zealand allophanic soils. *Soil Science* 98:118-120. 1964.
- 9 CHARLEY, J. I. The role of shrubs in nutrient cycling. In *Wildland shrubs their biology and utilization*, U.S. Department of Agriculture and Intermountain Forest and Range Experiment Station, General Technical Report INT-1, 1972, pp. 182-203.
- 10 FASSBENDER, H. W. y ISCHINKEL, H. Relación entre el crecimiento de plantaciones de *Cupressus lusitanica* y las propiedades de los suelos derivados de cenizas volcánicas en Colombia. *Turrialba* 24:141-149. 1971.
- 11 GUSTAFSON, A. F. The effect of drying soils on the water-soluble constituents. *Soil Science* 13:173-213. 1922.
- 12 HAYASHI, R. y HARADA, T. Characterization of the organic nitrogen through the effect of drying of soils. *Soil Science and Plant Nutrition* 15:226-234. 1969.
- 13 LEBEDJANIZEV, A. N. Drying of the soil as one of natural factors in maintaining soil fertility. *Soil Science* 18:119-147. 1921.
- 14 MUSA, M. M. Seasonal variation in the soil microflora and microbiological activity of the Soudan Gezira soils. *African Soils* 16:81-90. 1971.
- 15 NYE, P. H. y GREENLAND, D. J. The soils under shifting cultivation. Commonwealth Bureau of Soils, Technical Communication N° 51. 1960.
- 16 SEMB, G. y ROBINSON, J. B. O. The natural nitrogen flush in different arable soils and climates in East Africa. *East African Agriculture and Forestry Journal* 34:350-370. 1969.
- 17 TAMM, C. O. y PETERSON, A. Studies on nitrogen mobilization in forest. *Studia Forestalia Suecica*, N° 55. pp. 39. 1959 (*Soil and Fertilizer* 33:2555. 1970).
- 18 ————. Determination of nutrient requirements of forest stands. In Romberger, J. A. y Mikola, P., ed. *International Review of Forestry Research*. Vol. 1. London, Academic, 1964. pp. 115-170.
- 19 ISCHINKEL, H. Growth site factors and nutritional status of *Cupressus lusitanica* plantations in highlands of Colombia. Dissertation. Hamburg, Universität Hamburg, 1972. 165 p.
- 20 ————. La clasificación de sitios y el crecimiento del *Cupressus lusitanica* en Antioquia, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía (Colombia)* 27(1):3-30. 1972.
- 21 ————. Factores limitantes de crecimiento de plantaciones de *Cupressus lusitanica*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía (Colombia)* 27(2):3-36. 1972.
- 22 VALLE, J. I. DEL. Estado nutritivo de las plantaciones de *Cupressus lusitanica* en Antioquia, Colombia. (Sin publicar).
- 23 ————. Efecto del secado de suelos de origen volcánico de Colombia en la mineralización del nitrógeno y la productividad. (Sin publicar).
- 24 WADA, K. e INQUE, T. Retention of humid substances derived from rotted clove leaves in soil containing montmorillonite and allophane. *Soil Science and Plant Nutrition* 13:10-16. 1967.
- 25 WALKLEY, A. y BLACK, I. A. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37:29-38. 1934.
- 26 ZOITL, H. y ISCHINKEL, H. Nutrición y fertilización forestal: una guía práctica. Medellín, Universidad Nacional, Facultad de Ciencias Agrícolas, 1971. 114 p.

# Some physical aspects of Brazilian green coffee beans and the quality of the beverage<sup>\*1/</sup>

H. V. AMORIM\*\*, R. SMUCKER\*\*\*, R. PFISTER\*\*\*

## RESUMO

*Amostras de café verde classificadas como Mole e Rio por provadores profissionais, foram estudadas quanto a alguns aspectos físicos, utilizando microscópio eletrônico de varredura e microscópio comum. Os resultados revelaram que os cafés Rio possuem paredes celulares mais finas, menor densidade, e essas paredes celulares ocupam um menor volume em relação aos cafés Mole. Os resultados parecem evidenciar que nos cafés Rio houve degradação das paredes celulares na colheita ou na armazenagem. Os compostos de degradação das paredes celulares podem afetar sensivelmente a qualidade da bebida do café, embora não se possa afirmar pelo presente trabalho, que tais compostos sejam os únicos responsáveis pelo gosto e aroma Rio. — Os autores.*

### Introduction

It is well known that defective beans (black beans, yellow, etc.) can depreciate the quality of the coffee beverage (6, 7, 13). However, few papers have been published which relate physical aspects, other than color and bean shape, with the quality of the beverage (4, 11).

Menchu and Ortega (11) did observe a significant positive correlation between quality of the beverage and apparent density of green coffee, and apparent density of roasted Guatemalan coffees.

Burgin (4) studied cellular structures and localized caffeine and chlorogenic acid in different varieties of coffee, using light microscopy, although he did not compare different qualities of the beverage from the same variety.

The aim of this work is to compare cellular characteristics of the outer endosperm (hard) of commercial green coffee beans of the same variety but which differ in the quality of the beverage. Electron scanning and light microscopy techniques were applied.

### Materials and methods

Coffee bean samples were classified by the Brazilian Institute of Coffee and Cia. Cacique do Café Soluvel S. A., Londrina, Parana, Brazil, with respect to the quality of the beverage, as Soft (S) (mild flavor) and Rio (R) (phenolic like flavor). S-1, S-2 and R-1 samples were 3 years old and R-2, 7 years old. All coffee samples were of the same variety, *Coffea arabica* L., cultivar 'Mundo Novo'.

### Electron scanning microscopy

Coffee beans from Soft-2 and Rio-2 samples were fractured with a scalpel and the hard endocarp (5) fractions were fixed with 2.5 per cent osmium tetroxide at pH 6.5 for 7 hours, washed with buffer and then dehydrated with an ethanol/water series of 30, 45, 70, 90, 100, and 100 per cent (1 hour each), then twice in amyl acetate for 20 min. and critical point dried with CO<sub>2</sub> in a SAMDRI, PVT-3, critical point drying apparatus.

\* Received for publication June 5, 1975.

<sup>1/</sup> Research carried out in the Department of Microbiology, The Ohio State University, Columbus, Ohio 43210, U.S.A.

\*\* Department of Chemistry, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", University of São Paulo, 13400 Piracicaba, São Paulo, Brazil.

\*\*\* Department of Microbiology, The Ohio State University, Columbus, Ohio 43210, U.S.A.

Samples were rotary shadowed with gold-palladium in a high vacuum evaporator and the micrographs were taken with a Mini-Sem scanning electron microscope using Type PN55 Polaroid film.

Some treatments prior to osmium tetroxide fixation were carried out to remove lipids (diethyl ether), proteins (trypsin, 1N NaCl, 1N NaOH) and polysaccharides (1N NaOH). However, all treatments, with the exception of 1N NaCl apparently removed all the structures of the fractured surfaces. A second fracture in a perpendicular direction from the treated surface revealed that the ether and NaOH treatments affected cellular components but no conclusions could be made, probably because of the thickness of cell wall which impedes the complete removal of the solubilized components.

#### Light microscopy

The outer hard endosperm samples (5) were fixed in a solution of glutaraldehyde (4 per cent final conc.), 1.5 per cent sucrose, 0.01 per cent  $\text{CaCl}_2$ , and 500 ppm ruthenium red buffered with 0.05 M cocodylate buffer (pH 7.4) for 7 hours.

Residual glutaraldehyde was washed from samples with cocodylate buffer in sucrose and  $\text{CaCl}_2$ , the fractured beans were fixed with osmium tetroxide (2.5 per cent final conc.), sucrose,  $\text{CaCl}_2$ , and ruthenium red (same conc. as for glutaraldehyde fixation) for 9 hours.

Unreduced osmium tetroxide was washed with cocodylate buffer with sucrose,  $\text{CaCl}_2$ , and ruthenium red.

Using a series of aqueous ethanol solutions (30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 100 and 100 per cent) for 30 min. each, fixed samples were dehydrated for embedment in the Epon 812 medium according to Luft (9). Modified impregnation times of 20 min. in 100 per cent propylene oxide, 6 hours in each step of a propylene oxide/Epon series (3:1, 1:1, 1:3, v/v), and in 100 per cent Epon (12 hr. at 37°C, 12 hr. at 45°C, and 24 hr. at 60°C).

Thick sections (0.7  $\mu\text{m}$ ) were made with glass knives using an LKB Ultratome III and stained with the Huber (6) procedure. Using a Zeiss calibration standard and Kodak panchromatic negative film, photographic records were made of each of the 4 samples.

#### Physical analysis

Cell wall thicknesses were recorded with the aid of a Zeiss Particle Analyzer (Model TG23), measuring only those wall areas forming linear boundaries between adjacent sides (examples shown by arrows in Fig. 1). Relative volumes of cell wall and cytosol components were calculated on the basis of weighing cut out cell wall and cytosol regions of light photomicrographs.

Bean density was calculated by dividing the weight of 100 beans by their aggregate volume. Five replications of each coffee sample were made using a volumetric cylinder (0.2 ml accuracy) filled with 100 coffee beans of the respective types. Fine sand was added to each cylinder, which filled spaces between the beans, a

process promoted by vibrating the cylinder. The cumulative volume of the beans was simply determined as that fraction of the total bean-sand volume not represented by the sand. The percentage of water (10.7-11.2 per cent) was not taken into consideration in these density measurements.

#### Results and discussion

Table 1 shows data obtained from the light photomicrographs and other physical measurements. There is a positive correlation between increasing density of the bean, increasing cell wall thickness, and increasing percentage volume of cell wall. Soft coffees showed a higher density and a higher cell wall volume than the Rio coffees. The weight of 500 beans did not show a good relationship with the quality of the beverage, probably because of differences in the size of the beans.

Table 1.—Physical measurements of the whole bean and of the hard (outer) endosperm of *Arabica* coffee beans which differ in quality of the beverage. (The symbols in parenthesis represent number of counts).

Coffee sample	Wt. 500 beans g	Density	Cell wall thickness (mean) $\mu\text{m}$	Volume of cell walls %
Soft — 1	71.03	1.085	6.2 (972)	50.7
Soft — 2	57.69	1.014	5.6 (822)	49.7
Rio — 1	58.21	0.967	5.0 (731)	37.5
Rio — 2	49.21	0.781	4.3 (475)	35.6

Figure 1 shows the type of light micrographs from which the wall thickness data of Table 1 was obtained. Figure 2 shows the distribution pattern of cell wall thickness which gives more valuable information than a simple average. The distributions did not follow the Gaussian curve, but the peaks of maxima are clearly different and corroborate with the data of Table 1.

Figures 3 and 4 show two scanning electron micrographs of a fracture of Soft-2 and Rio-2 coffee samples. The thinner cell walls of Rio-2 coffee are evident.

These results show that the samples which have the Rio flavor passed through a process which induced the degradation of the cell walls (possibly other cell components too), during harvesting, processing and/or storage. An interesting point to note is that between the two Rio coffees the 7-year old (R-2) showed the lower density, cell wall thickness and per cent volume cell wall. It is well known that coffee loses dry weight upon storage (12) and the volatiles liberated might come also from cell wall components. On the other hand, compounds liberated from cell walls might depreciate the quality of the beverage. In this respect, Amorim *et al.* (2, 3) and Melo and Amorim (10) observed that proteins and phenolic components might



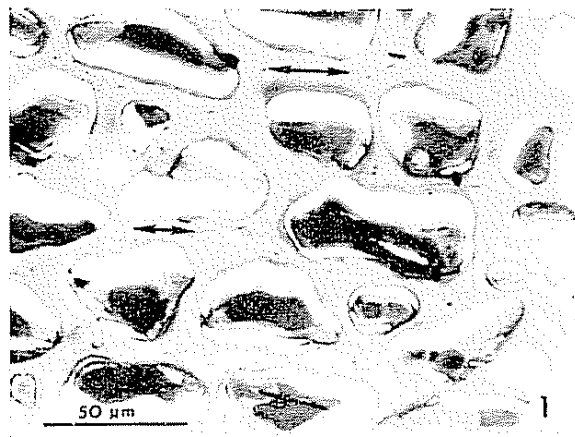


Fig. 1—Light micrograph of a thick section ( $0.7 \mu\text{m}$ ) of an Epon embedded *Coffea arabica* L. Soft-1 sample illustrating the areas from which wall thickness measurements were taken. Arrows indicate breadth of regions which are relatively common between two cells.

be involved in the reactions which lead to the Rio flavor, because fewer NaOH soluble proteins (3) and hydrolyzable phenols (2) were found in these coffees. In addition, if the higher absorption at 400 nm of TCA solubles (10) found in Rio coffees really represents a higher content of oxidized phenolics, (that could be lignin degradation products), this also corroborates and

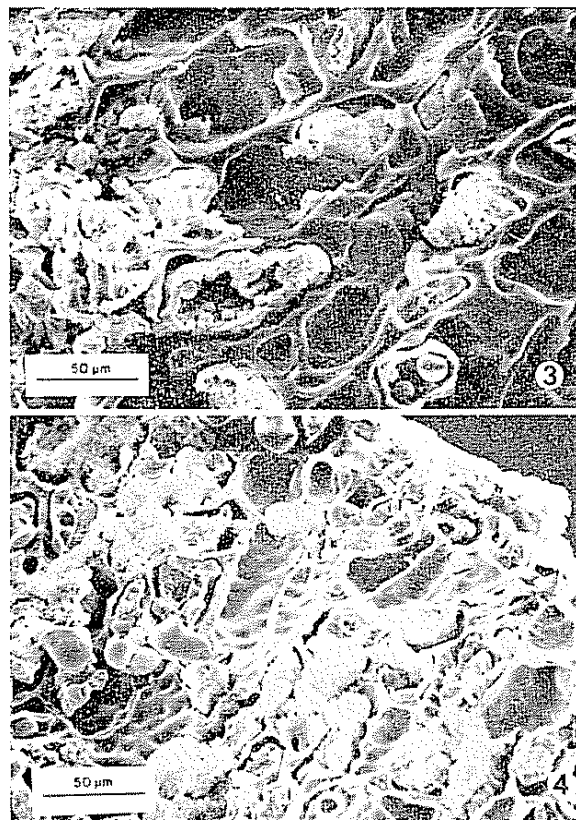


Fig. 3 and 4 Scanning electron micrographs of Soft-2 and Rio-2 samples showing secondary fractures with many of the cytosol structures.

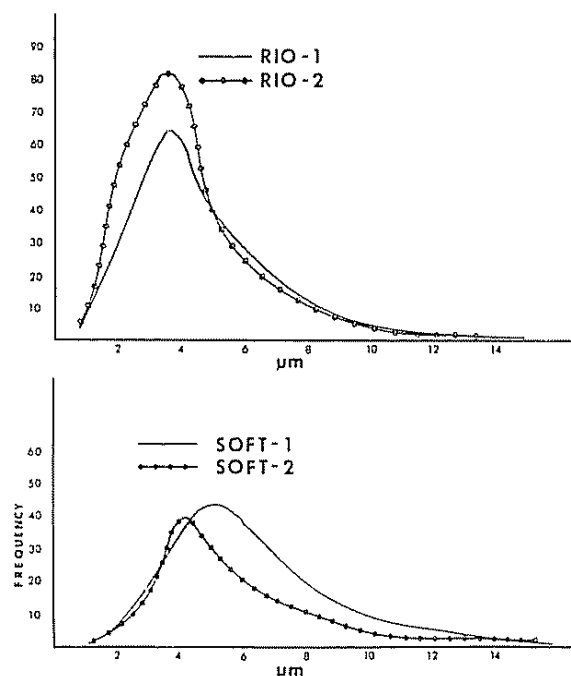


Fig. 2—Distributions of frequencies of cell wall thickness of four samples of green coffee (*Arabica*) beans.

links together the chemical analysis performed earlier (2, 3, 10) and the structural differences observed in this work.

The fact that no significant differences were found in free sugars and water soluble polysaccharides between Soft and Rio coffees (1) do not invalidate our present assumption, because there is a strong possibility that the sugars liberated from cell walls are metabolized giving rise to the production of  $\text{CO}_2$ , which may account for the loss in weight on storage and also in Rio coffees. The mechanism of such reactions and the production of volatiles in green coffee are at present under investigation in our laboratory.

### Conclusions

By the results obtained in this work it is evident that the green coffee beans which give the Rio flavor after roast and infusion have thinner cell walls which account for a lower ratio on the volume of cell wall/cytosol and also showed low densities. These differences may be attributed to cell wall degradation on harvesting/processing and/or storage conditions. However, components of cell wall degradation cannot, at present, be

indicated as the sole source of Rio flavor, because other components of the cell might undergo degradative reactions too

#### Summary

Green coffee samples classified as Soft (mild taste) and Rio (phenolic or medicinal taste) with respect to the quality of the beverage were subjected to physical analysis. Electron scanning microscopy and light microscopy of sections were used to compare both types of coffee. The results showed that Rio coffee had lower densities, thinner cell walls and lower cell wall/cytosol volume ratio. These differences were attributed to cell wall degradation on bad conditions upon harvesting/processing and/or storage. These studies indicate the probable role of cell wall degradation products on coffee flavor, although at present it is not possible to conclude that cell wall components are the sole factors responsible for the Rio flavor.

#### Acknowledgements

The grants from Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (Proc. Nº 73/1173) and from Companhia Cacique de Café Soluvel, S. A., Londrina, Parana, Brazil. We are indebted to Dr. Aldir A. Teixeira for some of the coffee samples and its classification as the quality of the beverage is concerned

#### Literature cited

- 1 AMORIM, H. V., TEIXEIRA, A. A., BREVIGLIERI, O., CRUZ, V. F., MALAVOLTA, E. Chemistry of Brazilian green coffee and the quality of the beverage. I. Carbohydrates. Turrialba 24(2):211-216. 1974.
- 2 ———, TEIXEIRA, A. A., GUERCIO, M. A., CRUZ, V. F., MALAVOLTA, E. Chemistry of Brazilian green coffee and the quality of the beverage. II. Phenolic compounds. Turrialba 24(2):217-221. 1974.
- 3 AMORIM, H. V., TEIXEIRA, A. A., MELO, M. CRUZ, V. F., MALAVOLTA, E. Chemistry of Brazilian green coffee and the quality of the beverage. III. Soluble proteins. Turrialba 24(3):304-308. 1974.
- 4 BURGIN, E. Unbehandelter und behandelter kaffee unter dem mikroskop. 10th International Colloquium in Coffee Chemistry. ASIC. Amsterdam, 2-6 juin. 1969. pp. 63-74.
- 5 DEDECCA, D. M. Anatomia e desenvolvimento ontogenético de *Coffea arabica* L. var. Typica Gramer. Bragantia 16(23):315-366. 1957.
- 6 HUBER, J. D., PARKER, F., and ODLAND, G. F. A basic fuchsin and alkalized methylene blue rapid stain for epoxy-embedded tissue. Stain Technology 43:83. 1968.
- 7 LAZZARINI, W., MORAES, F. R. P. Influencia dos grãos deteriorados (Tipo) sobre a qualidade da "bebida" do café. Bragantia 17:109-118. 1958.
- 8 ———. Qualidade da bebida de café. O Agrônomo (Brasil) 13(11-12):6. 1961.
- 9 LUFFI, J. H. Ruthenium red and violet. I. Chemistry, purification methods of use for electron microscopy and mechanism of action. Anatomical Record 171(3):347-368. 1971.
- 10 MELO, M., AMORIM, H. V. Chemistry of Brazilian green coffee and the quality of the beverage. VII. UV and visible spectral analysis and chlorogenic acids content in TCA soluble buffer extracts. Turrialba 25(3):243-248. 1975.
- 11 MENCHU, J. F. and ORTEGA, E. Correlación entre algunas propiedades físicas del café tostado y su calidad inherente. Agronomía (Guatemala) 2:9-19. 1971.
- 12 SIVETZ, M. and FOOTE, H. E. Coffee processing technology. Westport, Connecticut, U.S.A. The Avi Publishing Co., Inc. Vol. I. 1963.
- 13 TEIXEIRA, A. A., PIMENTEL GOMES, F. O defeito que mais prejudica o café. Revista de Agricultura 45:3-8. 1970.

# Efeito de duas fontes de nitrogênio na produção de matéria seca e proteína bruta no capim elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum)<sup>1/</sup>

JOSE RIBAMAR PEREIRA\*\*, LUCIO O. BASTOS D'OLIVEIRA\*\*\*

## ABSTRACT

*This experiment was carried out at the Mandacaru Experimental Station of The Superintendency of the São Francisco Valley located in Juazeiro, Bahia, Brazil. The purpose of this work was to evaluate the effect of two nitrogen sources, applied in different periods and in different levels, on the yield and crude protein content of elephant grass; also the nitrogen recovery and residual effect.*

*The treatments consisted of four levels of nitrogen: 0, 240, 360 and 480 kg/ba of N applied as urea and ammonium sulfate. The fertilizers were added in three equal applications, after planting and after second and fourth clippings. Every treatment received 100 kg/ba of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in the form of simple superphosphate after each clipping.*

*For both nitrogen sources it was observed an increase of crude protein as the level of applied nitrogen increased. In all treatments the production with ammonium sulfate was higher than with urea. Residual effect of nitrogen was not observed in all the treatments. The production of the third and fifth cuttings, were smaller than the first one despite the fact they had received the same amount of N and P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. — The authors.*

## Introdução

**A**S plantas respondem diferentemente a níveis crescentes de nitrogênio devido a vários fatores como características genéticas, propriedades do solo, clima e disponibilidade de água. Tem sido observado, através de trabalhos realizados com plantas forrageiras por diversos pesquisadores, que a aplicação de doses crescentes de nitrogênio provoca um aumento na produção de matéria seca e percentagem de proteína bruta

(9, 15, 19). Com relação à resposta das plantas cultivadas ao nitrogênio aplicado nas formas de sulfato de amônio e uréia, os resultados tem sido bem diversos, dependendo de fatores como aeração do solo, clima, textura, umidade, capacidade de troca de cátions e técnica de aplicação (1, 3, 8, 13, 16). Estas diferenças entre sulfato de amônio e uréia no incremento da produção tem sido atribuído a perdas de nitrogênio por volatilização (1, 8, 11, 12). Em solos com pH alcalino as perdas de nitrogênio pode ser de importância econômica, alcançando até 50 por cento do nitrogênio adicionado ao solo (8, 11, 17). Em condições onde possa haver perdas de nitrogênio por volatilização, especialmente quando aplicado em cobertura nos solos alcalinos a uréia tem sido menos eficiente do que o sulfato de amônio como fonte de nitrogênio devido à rápida hidrólise da uréia a carbonato de amônio, que em meio alcalino se decompõe rapidamente liberando NH<sub>3</sub> (1, 12, 16, 17, 18).

\* Recebido para publicação em Julho 15, 1975.

1/ Contribuição do Departamento de Recursos Naturais (DRN) da Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste (SUDENE) e da Superintendência do Vale do São Francisco (SUVALE).

\*\* Eng. Agr. M. S., Chefe do Laboratório de Solos e Água SUDENE/DRN - Petrolina - Pernambuco - Brasil.

\*\*\* Eng. Agr., Chefe da Estação Experimental de Mandacaru SUVALE - Juazeiro, Bahia, Brasil.

Os vertissolos do Médio São Francisco, localizados ao Norte do Estado da Bahia (Brasil), representam cerca de 40 por cento dos solos irrigáveis da região. A fonte de nitrogênio que vem sendo usada nestes solos para as diversas culturas irrigadas é o sulfato de amônio. Entretanto, existe a possibilidade de utilização da uréia, tendo em vista o menor preço do nitrogênio, aproximadamente 45 por cento mais baixo do que o nitrogênio do sulfato de amônio.

Considerando a causa anterior e a carência de informações a respeito da eficiência das diferentes fontes de nitrogênio, foi realizado este trabalho em um vertissolo sob irrigação, com a finalidade de comparar os efeitos de duas fontes de nitrogênio, sulfato de amônio e uréia, na produção e percentagem de proteína bruta do capim elefante e ainda determinar o efeito residual e a recuperação do nitrogênio adicionado, pelas plantas sob estas duas formas.

#### Materiais e métodos

O experimento foi realizado num vertissolo na Estação Experimental de Mandacaru da Superintendência do Vale do São Francisco (SUVALE), localizada em Juazeiro-Bahia. As características físicas e químicas do solo constam na Tabela 1.

O clima local de acordo com Hargreaves (10) é muito árido e segundo Köppen é Bsh'W semi-árido quente. A temperatura durante o ano varia de 23° a 28°C. Os meses mais quentes são outubro e novembro e os mais frios junho e julho. A diferença diária da temperatura varia em torno de 12°C. Há uma única estação de chuvas de novembro a abril com precipitação irregular. A precipitação média anual é de 443 mm. A umidade relativa média é de 67,8 por cento.

O experimento foi iniciado em 29.12.72 e concluído em 16.04.74. Os tratamentos consistiram de quatro níveis de nitrogênio: 0, 240, 360 e 480 kg/ha de nitrogênio, nas formas de uréia e sulfato de amônio, utilizando-se um delineamento em blocos ao acaso com três repetições. Os diferentes níveis de nitrogênio foram aplicados a lanço nos sulcos em três aplicações iguais, logo após o plantio e depois do segundo e quarto cortes. Todas as parcelas, de 28 m<sup>2</sup> e contendo cinco sulcos distanciados 0,80 m, receberam 600 kg/ha de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> na forma de superfosfato simples, que foi aplicado de seis vezes, em partes iguais após cada corte.

A irrigação foi feita sempre que 50 por cento da água disponível era consumida pelas plantas. O nível de umidade foi controlado por amostragem do solo.

Foram feitos seis cortes, o primeiro aos 90 dias e os demais espaçados de 75-78 dias. Depois de cada corte era retirada uma amostra do material de cada parcela que após seca em estufa a 70°C era moída para fins de análises químicas.

O nitrogênio total foi determinado, em cada amostra, pelo método de Kjeldahl (5) e a proteína bruta foi estimada através da multiplicação do teor de nitrogênio por 6,25.

A percentagem de recuperação do nitrogênio adicionado foi calculado individualmente para os cortes que receberam adubação nitrogenada. A fórmula usada foi a seguinte:

$$RN(\%) = \frac{Nf - Nt}{Na} \times 100$$

onde RN é a percentagem de recuperação de nitrogênio, Nf é a quantidade de nitrogênio retirado do solo pelo capim elefante nas parcelas adubadas, Nt é o nitrogênio retirado nas parcelas testemunhas, e Na é a quantidade de nitrogênio aplicado.

#### Resultados e discussão

Os resultados do uso de duas fontes de nitrogênio em diferentes níveis sobre a produção do capim elefante estão contidos na Tabela 2. Os resultados do primeiro corte mostram que a aplicação de doses crescentes de nitrogênio resultou em um aumento significativo na produção, contudo o sulfato de amônio foi mais eficiente em incrementar a produção do que a uréia. Informações semelhantes foram observadas em várias culturas por Power *et al.* (13, 14) e Blaster (2). O tratamento correspondente a 80 kg/ha de nitrogênio na forma de sulfato de amônio não diferiu significativamente dos tratamentos com 120 e 160 kg/ha de nitrogênio na forma de uréia. O incremento na produção de matéria seca devido a aplicação de 80, 120 e 160 kg/ha de nitrogênio em relação à testemunha foi respectivamente 4,5, 5,5 e 6,5 vezes para os tratamentos com sulfato de amônio e 3,3, 3,9 e 4,2 vezes para os tratamentos com uréia. No segundo corte a produção de matéria seca dos

Tabela 1.—Propriedades físicas e químicas do solo da área do experimento.

Prof. cm	pH(H <sub>2</sub> O) 1:1	CEes mmhos/cm	Ca++	Mg++	Na+	K+	P ppm	N %	M.O. %	CO <sub>2</sub> %	Arg %	Limo %	Areia %	Umidade	
			mg/100 g solo											0,3 atm %	15 atm %
0—30	8,0	0,32	27,3	6,8	0,18	0,34	1,7	0,04	0,94	3,3	63	12	25	30,2	17,4
30—60	8,1	0,35	27,5	7,6	0,20	0,26	1,5	0,04	0,80	4,0	60	13	17	31,5	17,8
60—90	8,0	0,41	26,1	6,3	0,37	0,18	1,6	0,04	0,62	4,3	61	13	26	32,2	18,1

Tabela 2.—Produção de capim elefante em função da fonte, quantidade e época de aplicação do nitrogênio.

Fonte do Nitrogênio	1ª aplicação de N kg/ha	1º Corte 16/3/73	2º Corte 5/6/73	2ª aplicação de N kg/ha	3º Corte 21/8/73	4º Corte 6/11/73	3ª aplicação de N kg/ha	5º Corte 24/1/74	6º Corte 16/4/74	Média
		M. seca t/ha	M. seca t/ha		M. seca t/ha	M. seca t/ha		M. seca t/ha	M. seca t/ha	
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0	2,82 a	1,64 a	0	1,45 a	1,07 a	0	1,52 a	1,45	1,66
	80	12,59 c	2,03 a	80	6,78 b	1,78 b	80	7,08 b	1,95	5,36
	120	15,76 d	2,36 b	120	8,33 cd	2,24 c	120	8,73 c	2,10	6,59
URÉIA	160	18,50 e	3,36 b	160	10,70 e	2,45 cd	160	10,94 d	3,25	8,20
	80	9,52 b	2,19 a	80	5,97 b	1,71 b	80	5,87 b	1,74	4,50
	120	11,00 c	2,49 b	120	7,26 bc	1,66 b	120	7,74 c	2,10	5,38
	160	11,97 c	3,33 b	160	9,67 de	2,50 d	160	8,60	2,56	6,44

Médias seguidas da mesma letra dentro da mesma coluna não diferem significativamente ao nível de 5 por cento de probabilidade de acordo com o teste de Duncan.

tratamentos, com exceção daqueles com 160 kg/ha de nitrogênio, na época do plantio, foram estatisticamente iguais à testemunha; isto significa que não houve efeito residual de nenhuma das duas fontes de nitrogênio.

No terceiro corte, em consequência da segunda aplicação de nitrogênio houve um aumento na produção de matéria seca em todos os tratamentos, contudo foi inferior ao observado no primeiro corte. Apesar dos resultados obtidos nos tratamentos com sulfato de amônio, para o mesmo nível de nitrogênio, terem sido mais altos do que no caso da uréia, as diferenças não foram estatisticamente diferentes. O incremento da produção que foi observado em função da aplicação de 80, 120 e 160 kg/ha de nitrogênio em relação a testemunha foi respectivamente 4,6, 5,7, e 7,3 vezes para os tratamentos com sulfato de amônio, e 4,1, 5,0 e 6,7 vezes para os tratamentos com uréia. As produções obtidas no quarto corte revelaram que praticamente não houve efeito residual da segunda aplicação de nitrogênio. Novamente as produções de matéria seca do quinto corte cresceram em função da terceira aplicação de nitrogênio, em uma sequência similar aos resultados do primeiro corte em relação às doses crescentes de nitrogênio. Nos tratamentos com sulfato de amônio as produções foram sempre mais altas do que com a uréia; contudo nem sempre foi estatisticamente diferente. O incremento da produção observado em função das doses crescentes de nitrogênio em relação à testemunha foi respectivamente, 4,7, 5,7 e 7,2 para o sulfato de amônio e 3,8, 5,0 e 5,7 vezes para a uréia nos níveis de 80, 120 e 160 kg/ha de nitrogênio. No sexto corte os resultados e a ordem de resposta foi semelhante ao segundo e quarto cortes.

Os resultados obtidos com a aplicação de nitrogênio no primeiro corte foram mais altos do que os resultados do terceiro e quinto cortes, isto considerando o mesmo tratamento, talvez devido a fatores climáticos, de acordo com vários pesquisadores citados por Guerrero *et al* (9).

Comparando-se os efeitos das duas fontes de nitrogênio sobre a média da produção de matéria seca dos seis cortes, verifica-se que o sulfato de amônio foi mais eficiente do que a uréia em incrementar a produção de matéria seca do capim elefante, para todos os níveis de nitrogênio, nas condições em que foi realizado este experimento.

A razão da maior eficiência do sulfato de amônio como fonte de nitrogênio deve ter sido consequência de uma maior perda de amônio por volatilização durante o processo de hidrólise da uréia. De acordo com diversos pesquisadores perdas de nitrogênio em quantidade apreciável tem ocorrido quando a uréia é colocada na superfície de solos neutros e alcalinos (3, 13, 14, 16).

O nitrogênio removido do solo pela parte aérea do capim elefante e a percentagem de proteína bruta foram influenciados de maneira bem definida pela quantidade, fonte e época de aplicação do nitrogênio (Tabela 3). A quantidade do nitrogênio removido no primeiro corte para o mesmo nível de nitrogênio foi mais alto nos tratamentos com sulfato de amônio. A média dos resultados dos tratamentos com uréia foi 65 por cento da média dos resultados com sulfato de amônio. No terceiro corte não houve diferença significativa entre os tratamentos com sulfato de amônio e uréia apesar da quantidade do nitrogênio removido nos tratamentos com sulfato de amônio ter sido mais alto para todos os níveis. No quinto corte a quantidade do nitrogênio removido foi superior nos tratamentos com sulfato de amônio para todos os níveis de nitrogênio aplicado ao solo. Considerando a média dos resultados, de cada fonte de nitrogênio, a uréia foi cerca de 75 por cento inferior ao sulfato de amônio. Tomando-se a média dos seis cortes, nota-se uma nítida vantagem do sulfato de amônio sobre a uréia para qualquer nível do nitrogênio aplicado ao solo. A quantidade total de nitrogênio removido por todos os tratamentos considerando os seis cortes foi superior ao nitrogênio

Tabela 3 — Quantidade do nitrogênio removido pelo capim elefante e percentagem de proteína bruta em função da fonte, quantidade e época da aplicação do nitrogênio

Fonte de N kg/ha	1º Corte		2º Corte		3º Corte		4º Corte		5º Corte		6º Corte		Média	
	kg/ha	P B %	kg/ha	P B %	kg/ha	P B %	kg/ha	P B %	kg/ha	P B %	kg/ha	P B %	kg/ha	P B %
0	21,3 a	5,38	10,3 a	3,91	11,1 a	4,75	7,9 a	4,56	15,8 a	6,56	12,0 a	5,9	13,6	5,06
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 240	129,3 c	6,44	14,2 ab	4,38	64,4 bc	5,91	12,0 ab	4,37	106,9 c	9,44	17,9 b	5,75	57,5	6,05
360	208,1 e	8,25	18,2 bc	4,81	91,6 d	6,87	16,2 b	4,50	138,0 d	9,87	18,8 b	5,56	81,8	6,64
480	266,5 f	9,00	28,2 c	5,25	130,0 e	7,14	16,4 b	4,37	192,5 e	11,00	29,0 c	5,56	110,5	7,10
UREIA 240	99,0 b	6,50	16,8 bc	4,87	57,9 b	6,06	11,0 ab	4,00	70,1 b	7,50	14,8 ab	5,31	45,0	5,70
360	135,9 cd	7,69	21,1 cd	4,87	79,8 cd	6,87	11,0 ab	4,12	107,6 c	8,69	17,5 b	5,19	62,1	6,21
480	158,1 d	8,25	25,5 de	5,12	123,8 e	8,00	18,7 b	4,69	147,0 d	10,68	21,2 bc	5,19	82,4	6,99

\* O nitrogênio foi dividido em três partes iguais e foi aplicado no plantio e após o segundo e quarto cortes.  
Médias seguidas da mesma letra dentro da mesma coluna não diferem significativamente ao nível de 5 por cento de probabilidade de acordo com o teste de Duncan.

adicionado ao solo, porém inferior à quantidade presente no solo: natural mais o adicionado.

A recuperação do nitrogênio (Figura 1) foi mais alta em todos os tratamentos com sulfato de amônio, para todos os cortes precedidos de adubação nitrogenada. No primeiro corte houve uma maior recuperação do nitrogênio do que no terceiro e quinto cortes, havendo entretanto uma superioridade dos resultados do quinto corte sobre os resultados do terceiro. Considerando a recuperação do nitrogênio em relação a quantidade total de nitrogênio aplicado e a soma das produções dos seis cortes, observa-se que nos tratamentos com sulfato de amônio, independente da quantidade de nitrogênio aplicado, a percentagem de recuperação para 240, 360 e 480 kg/ha de nitrogênio foi respectivamente 110, 114 e 121 para o sulfato de amônio e 79, 87, e 86 para uréia. A causa da recuperação do nitrogênio nos tratamentos com sulfato de amônio ter ultrapassado a 100 por cento foi devido provavelmente a utilização pelas plantas de maior quantidade do nitrogênio contido no solo (0,04 por cento) e perdas do nitrogênio por volatilização ter sido menor do que da uréia.

Nos dados da Tabela 3, observa-se um aumento na percentagem de proteína bruta em função dos níveis crescentes de nitrogênio aplicado ao solo o que concorda com resultados observados por vários pesquisadores (9). Nos cortes que não foram precedidos de aplicação de nitrogênio o teor de proteína bruta foi bem mais baixo do que nos cortes que receberam adubação nitrogenada. Ainda no exame dos dados da Tabela 3, nota-se que houve uma diferença no teor de proteína bruta entre os cortes precedidos de adubação, considerando o mesmo tratamento, os teores mais altos foram observados no quinto corte vindo em seguida o primeiro e o segundo cortes. Comparando-se o efeito das duas fontes

de nitrogênio observa-se de acordo com os dados obtidos, uma tendência do sulfato de amônio em superar a uréia com relação ao teor de proteína bruta. De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que houve um incremento da produção de matéria seca e percentagem de proteína bruta à medida em que as quantidades de nitrogênio aplicado aumentavam. Com relação ao efeito da fonte de nitrogênio, o sulfato de amônio foi mais eficiente do que a uréia, no incremento da produção de matéria seca (Tabela 2), percentagem de proteína bruta e na recuperação de nitrogênio pela parte aérea do

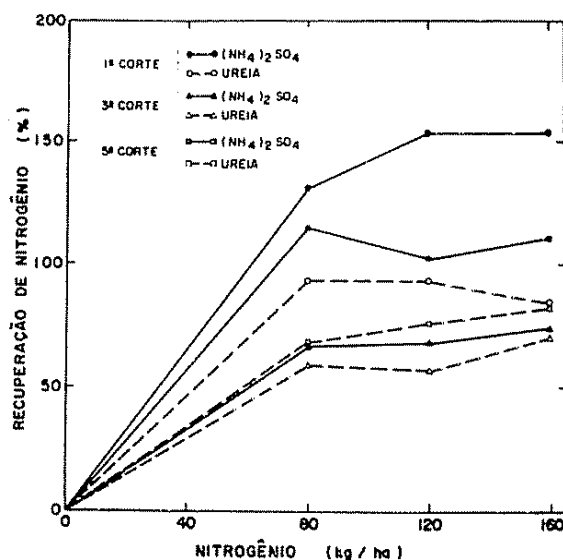


Fig 1 — Recuperação de nitrogênio pelo capim elefante em função de diferentes níveis e fontes de nitrogênio.

capim elefante (Tabela 3) A baixa eficiência da uréia como fonte de nitrogênio, nas condições em que foi realizado este experimento foi provavelmente devido a perdas de nitrogênio, por volatilização (13, 14, 16, 17). Existe a possibilidade de que a maior eficiência do sulfato de amônio como fonte de nitrogênio tenha sido consequência do enxofre contido neste fertilizante, mas isto seria difícil de comprovar, uma vez que após cada corte era aplicado em todas as parcelas 100 kg/ha de  $P_2O_5$  na forma de superfosfato simples que contém este elemento.

Dos dados de produção de matéria seca pode-se concluir que não houve efeito residual para nenhuma das formas de nitrogênio usadas (Tabela 2)

As diferenças nos resultados de matéria seca e porcentagem de proteína bruta nos cortes que receberam adubação nitrogenada (1º, 3º e 5º) foi devido provavelmente a fatores de ordem climática uma vez que esta foi a única variável que estava fora de controle.

#### *Literatura citada*

- 1 BLACK, C. A. Soil Plant Relationships. New York, John Wiley & Sons, Inc. 1968. 792 p
- 2 BLASTER, R. E., STOKES, W. E., GLASSCOCK, R. S., e KILLINGER, G. B. The effect of fertilizers on the growth and grazing value of pasture plants. Soil Science Society of America Proceedings 8:271-275 1943.
- 3 BROADMENT, F. E., e NAKASHIMA, T. Plant uptake and residual value of six tagged nitrogen fertilizers. Soil Science Society of America Proceedings 32:388-392. 1968
- 4 BURTON, G. W., e DEVANE, E. H. Effect of rate and method of applying different sources of nitrogen upon the yield and chemical composition of bermudagrass. Agronomy Journal 44:128-132. 1952
- 5 CHAPMAN, HOMER D. e PRATT, F. PARKER. Methods of analysis for soil, plant and water. Riverside, University of California 1961. 309 p
- 6 FAO/PNUD. Survey of the São Francisco River Basin (Brazil). III. Water and power resources, irrigation requirement and drainage. Rome, FAO/PNUD. 1964 94 p
- 7 FEN, L. B. e KISSEL, D. E. Ammonia volatilization from surface applications of ammonia compounds on calcareous soils. I: General theory. Soil Science Society of America Proceedings 37:855-859. 1973.
- 8 FULLER, WALLACE H. Reactions of nitrogenous fertilizers in calcareous soils. Agricultural and Food Chemistry 11:189 193. 1963
- 9 GUERRERO, RICARDO, FASSBENDER, HANS W. e BLYDENSTEIN, JOHN. Fertilización del pasto elefante en Turrialba, Costa Rica. I. Efecto de dosis crecientes de nitrógeno. Turrialba 20:53-58. 1970
- 10 HARGREAVES, GEORGE H. Climate zoning for agricultural production in Northeast Brazil. Utah, Utah State University 1974. 6 p.
- 11 MARTIN, J. P. e CHAPMAN, H. D. Volatilization of ammonia from surface fertilized soils. Soil Science 71:25-34. 1951
- 12 OVERREIN, L. N. e MOE, P. G. Factors affecting urea hydrolysis and ammonia volatilization in soil. Soil Science Society of America Proceedings 31:57-61. 1967.
- 13 POWER, J. F., ALESSI, J., REICHMAN, G. A. e GRUNES, D. L. Effect of nitrogen source on corn and bromegrass production, soil pH and inorganic soil nitrogen. Agronomy Journal 64:341-344. 1972.
- 14 POWER, J. F. *et al.* Recovery, residual effects, and fate of nitrogen fertilizer sources in a semiarid region. Agronomy Journal 65:765-768. 1973
- 15 SCARSBROOK, C. E. Regression of nitrogen uptake on nitrogen added from four sources applied to grass. Agronomy Journal 62:618-620. 1970.
- 16 TERMAN, G. I. e HUNT, C. M. Volatilization losses of nitrogen from surface applied fertilizers, as measured by crop response. Soil Science Society of America Proceedings 28:667-672. 1964.
- 17 VOLK, G. M. Volatile loss of ammonia following surface applications of urea to turf or bare soils. Agronomy Journal 51:746-749. 1961.
- 18 WATKINS, S. H., STRAND, R. E., DeBELL, D. S. e ESCH Jr., J. Factors influencing ammonia losses from urea applied to North-western forest soils. Soil Science Society of America Proceedings 36:354-357. 1972
- 19 ZELAYA M., HARVEY e BAREA S., FRANCISCO. Fertilización nitrogenada en sorgo forrajero (*Sorghum vulgare*, Pers.) y su optimización económica. Turrialba 23:432-437. 1973.

# Incidence and control of root rot disease of cashew seedlings, *Anacardium occidentale* in the nursery\*

O. A. OLUNLOYO\*\*

## COMPENDIO

*Durante la estación lluviosa de 1973 se observó en dos almácigos adyacentes, en la Estación Experimental de Gambari, Cocoa Research Institute de Nigeria, Ibadán, una severa pudrición radical de plántulas de marañón, Anacardium occidentale L. Las plántulas estaban creciendo en bolsas de polietileno para ser trasplantadas a parcelas del campo. Fueron aisladas persistentemente, de las raíces infectadas de marañón, Fusarium solani (Mart) Apel and W'f., Botryodiplodia theobromae Pat, Gliocladiopsis spp. y Pythium ultimum Trow.*

*Las pruebas de patogenicidad mostraron que Pythium ultimum fue la causa primaria de la enfermedad, mientras que Botryodiplodia theobromae and Gliocladiopsis fueron principalmente parásitos secundarios que no produjeron síntomas. Fusarium solani causó marchitamiento cuando se inoculó a las raíces con heridas pero fue incapaz de producir síntomas en raíces saludables. Esta es la primera vez que Pythium ultimum se registra como un organismo que causa pudrición de las raíces en plántulas de marañón en Nigeria. Se obtuvo un control químico completo con p-dimetilamino-benceno-diazo sulfonato de sodio (Dexon) aplicado a 113,6 kg/ha especialmente con el método de incorporación al suelo. — El autor.*

### Introduction

**D**URING the rainy season (April to October) of 1973, a severe root rot disease of cashew seedlings, *Anacardium occidentale*, was observed in two adjacent nursery sheds at the Gambari Experimental Station, Cocoa Research Institute of Nigeria. The seedlings were being raised in polyethylene bags for transplanting into the field plots. Disease incidence of the seedlings was estimated at 10 to 15 per cent in the nursery. The primary symptoms are the yellowing of the lower leaves of 4 to 6 week-old cashew seedlings and conspicuous stunting of the plants. Examination of the diseased plants reveals the rotting of the root systems with infection starting from the root tips. Some stunted seedlings which are seemingly healthy usually have rot-

ted root systems. Such plants can only survive temporarily on the reserved food material in the bulbous hypocotyl region of the seedlings and when the food reserve is exhausted, the seedlings die off.

There is no information on the occurrence of root rot of cashew seedlings. The objective of this study was to determine the causal agent and to control the disease.

### Materials and methods

#### Isolation of the root rotting fungi

Infected cashew seedlings with distinctly recognisable symptoms of the root rot disease were collected from the plants grown in naturally infested soil contained in polyethylene bags arranged on the nursery beds. The roots were thoroughly washed with fine jets of tap water and blot dried on filter paper. These roots were separated into tap roots and the lateral roots. Each of these was

\* Received for publication May 11, 1975

\*\* Plant Pathologist, Cocoa Research Institute of Nigeria, Gambari Experimental Station, P. M. B. 5244, Ibadan, Nigeria.



cut into 5-mm portions and then surface - disinfected in one per cent sodium hypochlorite solution for 30 seconds. The root pieces were washed thrice with sterile distilled water to remove the effect of sodium hypochlorite solution. The root pieces were plated on potato dextrose agar (PDA) contained in oven-dried petri-dishes and incubated for 3 days. Pure cultures of all the fungi that had grown were obtained for identification. The frequency of occurrence of the isolated fungi was determined from both the total number of the root pieces plated and the total number of fungi isolated.

#### *Pathogenicity test*

Seedlings raised from nuts of the tree selection Iwo 222 were used in the pathogenicity tests carried out in the glasshouse. The isolated fungi were tested by growing the fungi on potato dextrose agar contained in petri-dishes for seven days at 25°C. Inoculation of the seedlings at four stages of the plants' development were carried out as follows:

1—One-day-old germinating nuts were inoculated by mixing two petri-dishes of the fungus with steam-sterilized garden soil in 20-cm clay pots approximately 5 cm below surface-disinfected cashew nuts. An additional 5 cm of steamed soil was used to cover the nuts.

2—One-week-old seedling growing in stem-sterilized saw-dust in 10 cm diameter polyethylene bags with wide drainage holes were placed on sterilized garden soil in 20-cm clay pots inoculated by mixing two plates of the mycelial inoculum of each of the fungi with the top 5 cm of soil. When the roots of the young plants grew out through the drainage holes they eventually would touch the layer of the fungal inoculum in the pots.

3—Two-week-old plants growing in steam-sterilized garden soil in 20-cm clay pots were inoculated by placing inoculum against the tap-root about 3 cm beneath the soil.

4—Four-week-old plants in 20-cm clay pots containing sterile soil were also inoculated by inserting a small portion of the 7-day-old agar culture into a longitudinal slit made with the aid of a sterile scalpel at the crown of the root of each plant.

In the control series similar procedures were followed using sterile agar. All inoculation experiments were carried out in the glasshouse where temperature varied between 26°C and 30°C. Abundant soil moisture content was maintained with tap water.

Before planting, the nuts were soaked for 24 hours and only those that sank were used for planting while the floating ones were discarded. This procedure of soaking the nuts hastened germination. Twenty-five pots with two plants per pot were inoculated with each fungus while the same number of pots was allotted to the control. Plants were observed for signs of root rot for 8 weeks after inoculation. Re-isolations were made to confirm whether the inoculated fungus was the one producing the observed symptoms in the infected plants.

#### *Chemical control experiment*

Control of the root disease was carried out under the glasshouse conditions by using 5 per cent wettable powder P-dimethylaminobenzenediazo sodium sulphonate (Dexon). In the glasshouse experiments, naturally infested soils were collected from several locations in the vicinity of the nurseries at the Gambari Experimental Station. The soils were mixed and the resulting composite was used. Three kilogram of the infested soil was weighed into each of the 15 cm diameter and 30 cm deep black polyethylene bags. The presence or absence of the root rotting agent in the soil was tested by planting cashew nuts of the tree selection Iwo 222 in the polyethylene bags.

The chemical was applied at the rate of 12.5, 25 and 50 milligram per kilogram of the infested soil. These calculated amounts of the chemical were equivalent to 28.4, 56.8 and 113.6 kg/hectare respectively. The fungicide was applied to the soil by methods similar to those used by Olunloyo (17) as follows:

- (a) incorporated with the soil before planting;
- (b) applied at the seed (nut) level at the time of planting;
- (c) added to the soil surface immediately after the nuts were sown.

Incorporation of Dexon with the soil was accomplished by using a hand trowel. All treatments were replicated ten times with two nuts sown per polyethylene bag. Untreated but infested soil and steam-sterilized soil in polyethylene bags similarly replicated served as two sets of controls for each treatment. Each nut was covered with two centimeters of soil after sowing. Water was applied to all the pots in the morning every day. The temperature in the glasshouse varied between 25°C and 30°C during the period of the experiments. In order to test the residual effects of Dexon in the same soil the second planting was carried out. Before the second planting in the glasshouse tests, however, the soils from all treatments receiving similar chemical dosage were combined, sieved and thoroughly mixed. The identity of the soil was maintained. Root rot disease rating was determined 16 weeks after germination. Root rot indices were assessed on the basis of disease ratings of 0 to 4 as follows:

- 0 — no infection;
- 1 — infection restricted to the root tips;
- 2 — infection restricted to the root branches and secondary roots;
- 3 — some of the roots including the main root totally diseased, the remainder only partly infected;
- 4 — entire root system infected.

In the root rot ratings, a disease index for each treatment replicate was attained by multiplying the number of plants in each class by the respective rating number; the totals were added and the sum was divided by the total number of plants in the replicate

Confirmation of the root infection was obtained by dipping the infected roots into one per cent (1.0 per cent) solution of 2, 3, 5-triphenyl-tetrazolium chloride (T.T.C.) used as an indicator to determine the extent of root infection by pythiaceus fungi (9).

Results

*Fusarium solani*, *Botryodiplodia theobromae*, *Gliocladiopsis* species and *Pythium ultimum* were consistently isolated from the rotted root systems of cashew seedlings. *Pythium ultimum* was isolated more often from the lateral roots than the other fungi (Table 1).

Results of the pathogenicity tests shown on Table 2 indicated that *Pythium* species was the primary organism associated with the root rot of cashew seedlings. *Fusarium solani*, *Gliocladiopsis* species and *Botryodiplodia theobromae* did not infect the healthy seedlings at any of the stages of the plant's development, but *Fusarium solani* induced wilting when inoculated by wounding 6-week-old plants. *Pythium* species was pathogenic at the four stages of the development of the plant. Observations of the seedlings inoculated in the glasshouse indicated that the radicle was infected shortly after emergence from the nut although varying degrees of radicle elongation occurred before attack. Some germinating seedlings were attacked in the neck region or at the growing root tip. Such seedlings died when neck region was invaded, separating the immature root system from the cotyledons. Some seedlings attacked in this manner emerged from the soil but eventually damped-off. Seedlings attacked at the root tip at the late

Table 2.—Pathogenicity of *Fusarium solani*, *Gliocladiopsis* sp., *Pythium ultimum* and *Botryodiplodia theobromae* on cashew. Fifty plants inoculated in each trial. Figures represent per cent of root rot.

Stage of plant at inoculation	<i>Fusarium solani</i>	<i>Gliocladiopsis</i> spp.	<i>Pythium ultimum</i>	<i>B. theobromae</i>
One day old germinating nuts	0	0	100	0
One week old seedlings	0	0	92	0
2 week old	0	0	88	0
4 week old	66	0	100	0

stages of their development survived attack by forming secondary roots above the infection area and such plants appeared capable of developing into normal, healthy, matured plants. In more advanced infection of older seedlings, the entire root system was destroyed producing similar symptoms observed in the nursery (Figs 1 and 2). Most of the germinating seedlings were killed within 3 weeks after inoculation and those inoculated by wounding 6-week-old seedlings developed roots necrosis within six weeks. Plants that tolerated infection beyond the seedlings stage had stunted growth.

Isolations from the inoculated roots yielded the original *Pythium ultimum*. All the plants in the control remained healthy.

Control of the root rot disease was achieved with p-dimethylaminobenzene diazo sodium sulphonate (Dexon) applied at 113.6 kg/ha especially when the chemi-

Table 1.—Fungi isolated from the infected root tissues of cashew seedlings in the nursery.

Fungus	Isolation from a 1/		
	Tap root	Lateral root	Hypocotyl
1. <i>Fusarium solani</i> (Mart) Appel & Wr	71	66	28
2. <i>Gliocladiopsis</i> sp	26	4	—
3. <i>Pythium ultimum</i> Trow	45	81	—
4. <i>Botryodiplodia theobromae</i> Pat.	31	—	6

1/ Figure represent number of times fungus was isolated from 100 pieces of infected root plated on potato dextrose agar (PDA).



Fig 1.—Cashew seedlings with rotted root systems (left) and healthy seedlings with normal root systems (right).



Fig 2—The characteristic stunting effect of *Pythium ultimum* on cashew seedlings (left) compared with normal seedlings (right)

Table 3—Root rot ratings of cashew seedlings grown in soil naturally infested by *Pythium ultimum* and treated with Dexon.

Method of chemical treatment	Dosage applied (kg/ha)	Average root rot index <sup>1/</sup>	
		First planting	Second planting
1 Incorporated with soil before planting	28.4	1.5	0.8 a
	56.8	0.5	0.3 a
	113.6	0.0	0.0
2 Applied at seed level at the time of planting	28.4	2.8	2.2 c
	56.8	1.6	1.0 a
	113.6	1.0	1.0 a
3 Added to the soil surface immediately after the nuts were sown	28.4	2.0	1.5 b
	56.8	0.8	0.5 a
	113.6	0.5	0.0
4 No chemical (control)	—	4.0	4.0 d
5 Steam-sterilized soil (control)	—	0.0	0.0

<sup>1/</sup> Indices followed by the same letter are not significantly different at the 5% as determined by Duncan's Multiple Range Test. Root rot index of: — 0 no infection; 1 — infection restricted to the root tips; 2 — infection restricted to the root branches and secondary roots; 3 — some of the roots including the main root totally infected, the remainder only partly infected; 4 — entire root system infected

cal was incorporated with the soil before planting (Table 3). No top injury of the plant was observed in any of the three methods of application of the chemical. Observations showed that only plants whose root systems showed root rot ratings of 3 or 4 were stunted and later killed by *Pythium* while those plants with root rot rating of 2 or less grew normally. Steam sterilization of the infested soil was also very effective in controlling the organism. All plants grown in untreated infested soil had root rot rating of 4. This is the first time *Pythium ultimum* is being reported as a root rot organism on cashew seedlings in Nigeria.

### Discussion

This investigation showed that *Pythium ultimum* Trow was the primary cause of the root rot disease of cashew seedlings in the nurseries. The pathogen, when operating under favourable condition of abundant soil moisture, usually caused severe root damage and consequent death of the infected seedlings. This observation supported the findings of some workers who reported that abundant soil water favoured diseases of seedlings and ornamentals incited by *Pythium* species (3, 4, 8, 10, 13, 20). The importance of *P. ultimum* as pathogen of pea roots (1, 5, 10, 19), cotton seedlings (2), corn seedlings (7), muskmelon (14), poinsettia (21), wheat (22), beans (11) and the foliage of highland bentgrass (16) was well documented.

*Fusarium solani*, *Gliocladiopsis* species and *Botryodiplodia theobromae* were only secondary parasites which only came in after the root systems of the seedlings had been infected by *P. ultimum*. However, *Fusarium solani* induced wilting of the seedlings only when injured roots were inoculated with the organism causing 66 per cent of the 4-week old cashew seedlings inoculated by wounding to die off (Table 2). This suggested that special care should be taken to prevent root damage during the process of transplanting the seedlings into the experimental plots as any root injury would serve as an entry point to soil parasite such as *Fusarium solani* which could cause the plant to wilt.

Root rot disease of cashew seedlings could be a limiting factor in the establishment of the plants in old plantations which might have been naturally infested by *Pythium* species. It is, therefore, suggested that before any transplanting is made estimation of the inoculum potential of *Pythium* in such plantations should be carried out using a procedure applied by Olunloyo (17) to determine the inoculum level of *Phytophthora parasitica* Dast. var. *nicotianae* (Breda de Hann) Tucker, the causal organism of root and stem rot disease of roselle fibre crop in three plantations in Nigeria. Such estimation of the inoculum level could serve as a warning to cashew farmers who might not be aware that a field had already been naturally infested by *Pythium* and that planting of cashew directly in such areas could lead to a greater loss. As far as the author is aware, this is the first time *P. ultimum* is being reported as a root rot organism of cashew seedlings in Nigeria.

Complete chemical control of the disease was achieved when p-dimethylaminobenzenediazo sodium sulphate (Dexon) was applied at the rate of 113.6 kg/hectare especially by soil incorporation method in the glasshouse tests. Dexon had been reported to be highly effective against some phycomycetous pathogens of seedlings such as *Aphanomyces euteiches* Drechsler (6, 12, 18), and roots such as *Pythium ultimum*, *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp and *Aphanomyces cochlioides* Drechsler (12, 15), *Phytophthora cinnamomi* Rands (23) and *Phytophthora parasitica* var *nicotianae* (17).

#### Summary

A severe root rot disease of cashew seedlings, *Anacardium occidentale* L., was observed in two adjacent nursery sheds during the rainy season of 1973 at the Gambari Experimental Station, Cocoa Research Institute of Nigeria, Ibadan. The seedlings were being raised in polyethylene bags for transplanting into the field plots *Fusarium solani* (Mart.) Apel and Wr., *Botryodiplodia theobromae* Pat., *Gliocladiopsis* spp. and *Pythium ultimum* Trow were consistently isolated from the infected roots of cashew seedlings.

Pathogenicity tests showed that *Pythium ultimum* was the primary cause of the disease while *Botryodiplodia theobromae*, and *Gliocladiopsis* were mainly secondary parasites which did not produce any symptoms. *Fusarium solani* caused wilting when inoculated into wounded roots but was unable to produce any symptoms on healthy roots. This is the first time *Pythium ultimum* is being reported as a root rot organism of cashew seedlings in Nigeria. Complete chemical control of the disease was achieved with p-dimethylaminobenzenediazo sodium sulphate (Dexon) applied at 113.6 kg/hectare especially by soil incorporation method.

#### Acknowledgements

The authors is indebted to the field and laboratory assistants of Cocoa Research Institute of Nigeria, Plant Pathology Division, for technical assistance. This paper is published with the kind permission of the Acting Director, Cocoa Research Institute of Nigeria, Gambari Experimental Station, Ibadan.

#### Literature cited

- ALCONERO, R and HAGEDORN, D. J. *Pythium* relationship to *Aphanomyces* root rot of peas. *Phytopathology* 57:1394-1395. 1967
- ARNDT, C. H. *Pythium ultimum* and the damping-off of cotton seedlings. *Phytopathology* 33:607-611. 1943
- BATEMAN, D. F. The effect of soil moisture upon development of poinsettia root rot. *Phytopathology* 51:445-451. 1961
- BUCHHOLZ, W. F. Factors influencing the pathogenicity of *Pythium debaryanum* on sugar beet seedlings. *Phytopathology* 28:448-475. 1938
- ESCOBAR, C., BEUTE, M. K. and LOCKWOOD, J. I. Possible importance of *Pythium* in root of peas. *Phytopathology* 57:1149-1151. 1967
- HILLS, F. J. and LEACH, I. D. Photochemical decomposition and biological activity of p-dimethylaminobenzenediazo sodium sulphate (Dexon). *Phytopathology* 52:51-62. 1962
- HOPPE, P. E. Differences in *Pythium* injury to corn seedlings at high and low soil temperatures. *Phytopathology* 39:77-84. 1949
- KEER, A. The influence of soil moisture on infection of peas by *Pythium ultimum*. *Australian Journal of Biological Sciences* 17:676-685. 1964
- KLOTZ, L. J. and DEWOLFE, I. A. Tetrazolium, an indicator of extent of infection in *Phytophthora* root of citrus. *Plant Disease Reporter* 49:423-424. 1965
- KRAFT, J. M. and ROBERTS, D. D. Influence of soil water and temperature on the pea root rot complex caused by *Pythium ultimum* Trow and *Fusarium solani* f. sp. pisi. *Phytopathology* 59:149-152. 1969
- KRAFT, J. M. and BURKE, D. W. *Pythium ultimum* as a root rot of beans and peas in Washington. *Plant Disease Reporter* 55:1056-1060. 1971
- LEACH, I. D., GARBER, R. H. and TOLMSOFF, W. J. Selective protection afforded by certain seed and soil fungicides (Abstr.). *Phytopathology* 50:643-644. 1960
- LUMSDEN, R. D. and HAASIS, F. A. *Pythium* root and stem rot of chrysanthemum in North Carolina. North Carolina, Agricultural Experiment Station, Technical Bulletin N° 158. 1964. 27 p.
- McKEEN, C. D. and THORPE, H. J. A *Pythium* root rot of muskmelon. *Canadian Journal of Botany* 46:1165-1171. 1968
- MITCHELL, J. E. and HAGEDORN, D. J. Effect of sodium p-(dimethylamino) benzenediazo sulphate on activity of *Aphanomyces euteiches* in the soil. *Plant Disease Reporter* 53:697-701. 1969
- MOORE, I. D., COUCH, H. B. and BLOOM, J. R. Influence of environment on diseases of turfgrasses. III. Effect of nutrition, pH, soil temperature, air temperature and soil moisture on *Pythium* blight of Highland bentgrass. *Phytopathology* 53:53-57. 1963
- OLUNLOYO, O. A. Studies on the root and stem rot disease of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). Ph.D. Thesis, University of Ibadan, Nigeria, 1973. 260 p.
- RAABE, R. D. and HURLIMANN, J. H. Penetration of Dexon into greenhouse soil mixes. *Phytopathology* 55:1072 (Abstr.) 1965
- REINKING, O. A. Distribution and relative importance of various fungi associated with root rot in commercial pea-growing areas in New York. New York State Agricultural Experiment Station, Technical Bulletin N° 261. 1942. 43 p.

- 20 ROIH, L. F. and RIKER, A. J. Influence of temperature, moisture and soil reaction on the damping-off of red pine seedlings by *Pythium* and *Rhizoctonia*. *Journal of Agricultural Research* 67:273-293. 1943.
- 21 TOMPKINS, C. M. and MIDDLETON, J. T. Aetiology and control of Poinsettia root and stem rot caused by *Pythium* species and *Rhizoctonia solani*. *Hilgardia* 20: 171-182. 1950.
- 22 VANIERPOOL, I. C. The phenomenal decline of browning root rot (*Pythium* spp.) on the Canadian prairies. *Scientific Agriculture* 32:143-152. 1952.
- 23 ZENTMYER, G. A. and GILPATRICK, J. D. Soil fungicides for prevention and therapy of *Phytophthora* root rot of avocado. *Phytopathology* 50:660 (Abstr.) 1960.

# El virus del rayado fino del maíz: estudios adicionales sobre la relación del virus y su insecto vector\*1/

RODOLFO PANIAGUA, RODRIGO GAMEZ\*\*

## ABSTRACT

*The leafhopper Dalbulus maidis was able to acquire maize rayado fino virus (MRFV) after a 6 h feeding period on diseased plants, and transmit it to healthy plants after inoculation feedings of 8 h. Slightly higher proportions of viruliferous insects were obtained with prolonged acquisition or inoculation feeding periods. Colonies of 23 to 40 per cent transmitters in the F<sub>2</sub> generation were developed through controlled matings and selection of viruliferous progeny, while 17 to 28 per cent vectors were obtained from non viruliferous progeny. The more active colonies returned to a level of 11 to 28 per cent vectors following a few generations of random mating. In the more active colony 75 per cent of the females were viruliferous as compared to 43 per cent of the males. Puncturing the anterior abdomen of nymphs immediately before or after acquisition, increased slightly the ability of D. maidis to transmit MRFV. A number of species of Graminae and Cyperaceae appeared not susceptible to the virus and were poor hosts for D. maidis. MRFV was not transmitted by the planthopper Peregrinus maidis. — The authors.*

## Introducción

**L**A transmisión del virus del rayado fino del maíz (VRFM) por *Dalbulus maidis* DeLong & Wolcott, se caracteriza por un período de incubación en el saltahojas, que oscila de 8 a 37 días (7, 8, 9). La transmisión del virus es intermitente, y la infectividad de los insectos virulíferos decrece con el tiempo, aunque el virus puede recuperarse de los insectos que han perdido la capacidad de transmitirlo (8). El período de incubación del VRFM en machos es menor que en las hembras, pero los machos mueren primero. Por otra parte las hembras parecen ser vectores más eficientes que los machos (8, 9). No todos los insectos en

una población de *D. maidis* son transmisores del virus; únicamente un 11 a 28 por ciento aproximadamente pueden adquirirlo y transmitirlo (8, 9). Cuando la adquisición e incubación del virus en el vector ocurren a temperaturas de 20 a 25°C, un mayor número de insectos es capaz de transmitir el virus por períodos más prolongados que a 30°C. Por otra parte, no parece ocurrir transmisión transovarial del VRFM a la progenie de hembras virulíferas (9). El modo en que *D. maidis* transmite el VRFM y particularmente el largo período de incubación del virus en el vector, son típicos de virus que se multiplican en el insecto transmisor (3, 4, 8).

En el presente trabajo se investigan algunos aspectos de las relaciones virus-vector no incluidos en estudios anteriores: períodos de alimentación requeridos para la adquisición y transmisión del virus; desarrollo de razas del vector con mayor eficiencia de transmisión; efecto de punciones abdominales del vector en la adquisición y transmisión del virus; prueba de algunas especies de plantas silvestres como posibles hospedantes del virus y del vector; y prueba de otra especie de homóptero como transmisor del VRFM.

\* Recibido para su publicación el 8 de setiembre de 1975.

1/ Parte de una tesis presentada por el autor principal a la Universidad de Costa Rica para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

\*\* Laboratorio de Virus, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria, Costa Rica.

### *Materiales y métodos*

#### *Transmisión del virus*

La raza del virus empleada en este trabajo fue la misma utilizada en estudios anteriores (7, 8, 9). Igualmente el desarrollo de las colonias del vector y las pruebas de transmisión se realizaron en la forma previamente descrita (7, 8, 9).

Brevemente, los insectos no expuestos a plantas enfermas se denominaron "sanos", y los que se alimentaron en plantas enfermas se denominaron "expuestos". Como no todos los insectos expuestos transmitieron el virus, los que sí lo hicieron se llamaron "transmisores o virulíferos". Las pruebas de transmisión se efectuaron en una cámara de crecimiento, a una temperatura de  $22,5 \pm 1^\circ\text{C}$ , que es adecuada para la adquisición y transmisión del virus (8, 9). El día en que se inició cada experimento se denominó día "1", día "2", el siguiente, y así consecutivamente. A menos que se indique de otra manera, para la adquisición del virus los insectos sanos, ninfas de 3<sup>o</sup> ó 4<sup>o</sup> instar, fueron expuestos a plantas enfermas por períodos de 5 días, (período de adquisición) siendo luego transferidos a plantas sanas, sobre las cuales permanecían hasta el día 15 ó 23 de iniciado el experimento (9) (período de incubación). Cumplido el período de incubación los insectos se probaron sobre plantas sanas, individualmente o en grupos, por 1 ó 2 períodos consecutivos de 7 días de duración para determinar si eran o no transmisores (período de prueba). Un grupo de insectos no expuestos, provenientes directamente de las colonias sanas, se probó regularmente para determinar si dichas colonias se hallaban libres del VRFM, con resultados consistentemente negativos.

Al igual que en estudios anteriores (7, 8, 9) una línea homocigota de maíz (T-3) sirvió como planta de prueba y fuente de inóculo; las plantas se inocularon cuando tenían 1-2 hojas, de 8 a 10 días después de la siembra. Las plantas inoculadas se mantuvieron en invernaderos con temperaturas fluctuantes de  $22 \pm 4^\circ\text{C}$ .

#### *Desarrollo de razas altamente transmisoras*

Para el desarrollo de razas altamente transmisoras se utilizó un grupo de ninfas expuestas que habían completado los períodos de adquisición e incubación del virus. Durante el período de incubación y conforme las ninfas iban transformándose en adultos, se separaban en grupos diferentes de acuerdo al sexo, a fin de evitar el apareamiento. A partir del día 16 estos insectos se probaban individualmente por 2 períodos consecutivos de 7 días de duración, a fin de determinar si eran o no virulíferos. Concluido el período de prueba se formaban parejas que se mantenían separadamente en una planta de maíz. Después de la cópula y la oviposición, que usualmente ocurría durante un lapso de 8-15 días, los insectos adultos se eliminaban. A partir de este momento y al acercarse la época de eclosión de los huevos, las plantas se observaban frecuentemente, a fin de separar inmediatamente las ninfas ( $F_1$ ) que emergían, para evitar su posible contaminación con el virus, al alimen-

tarse dichas ninfas de la planta que podría haber sido infectada por los insectos padres. Las ninfas recién emergidas se transfirieron a plantas sanas, sobre las cuales se mantuvieron hasta su utilización en pruebas individuales para determinar su capacidad de transmitir el VRFM en la forma antes descrita. De estos insectos se seleccionaron parejas de transmisores y no transmisores que se aparearon para la obtención de una nueva generación ( $F_2$ ), en la cual la capacidad de transmitir el VRFM fue igualmente determinada.

#### *Punción abdominal de los saltahojas*

Las punciones abdominales se hicieron en la forma descrita por Sinha (16, 17). Las ninfas de 3<sup>o</sup> ó 4<sup>o</sup> instar del vector se anestesiaron exponiéndolas a una corriente de  $\text{CO}_2$  durante 30 segundos. Luego se utilizó un alfiler entomológico, previamente desinfectado en alcohol, para punzar la parte anterior del abdomen de las ninfas. Un primer grupo de ninfas recibió la punción y fue inmediatamente expuesto a plantas enfermas por un día; un segundo grupo sufrió la punción después de completado el período de adquisición de un día. Un tercer grupo, que no recibió punción y tuvo un período similar de adquisición, fue mantenido como testigo. Posteriormente los insectos se probaron individualmente, a fin de determinar si eran o no virulíferos.

#### *Pruebas de plantas silvestres como hospedantes del VRFM y su vector*

Se colectaron 8 especies de plantas gramíneas y ciperáceas, que crecían como hierbas silvestres en los alrededores de campos cultivados de maíz, en la Estación Experimental de la Universidad de Costa Rica, en Alajuela; seis de ellas eran gramíneas: *Setaria geniculata* (Lam) Beauv; *Paspalum conjugatum* Bergius; *Digitaria sanguinalis* (L) Scop; *Cenchrus* sp. y *Axonopus scoparius* (Flugge) Hitchc. Dos especies eran ciperáceas: *Cyperus tenuifolius* (Steud) Dandy, y *Cyperus* sp. En las pruebas se utilizaron cuatro plantas de cada una de las especies. La cepa de cada planta colectada se dividió en varias partes iguales, que fueron sembradas y mantenidas en invernadero bajo condiciones antes descritas. Cuando las nuevas yemas axilares iniciaron su crecimiento, grupos de 5 saltahojas expuestos se confinaron sobre las plantas, por períodos de 24 a 36 horas de acuerdo a técnicas antes señaladas. Las plantas se mantuvieron en invernadero, para observar la posible aparición de síntomas del VRFM. Un mes después de la inoculación se intentó recuperar el virus de las plantas probadas, utilizando insectos sanos que se expusieron a estas plantas por períodos de 1 día. Después de transcurrido un lapso de tiempo equivalente al período de incubación promedio del VRFM en su vector, los insectos se probaron en plantas sanas para determinar si habían adquirido el virus de las plantas silvestres.

#### *Pruebas de transmisión con *Peregrinus maidis* (Asch)*

Un saltahoja identificado como *P. maidis* se colectó en plantas de maíz en la Estación Experimental en Alajuela. Con esta especie se estableció una colonia en

invernadero, y fue utilizado en pruebas de transmisión del VRFM, en forma similar a la descrita para *D. maidis*.

### Resultados

#### Transmisión del VRFM después de periodos de adquisición y prueba de diferente duración

El efecto en la transmisión del VRFM de periodos de adquisición de diferente duración fue determinado con grupos de 20 a 28 insectos que tuvieron separadamente periodos de adquisición de 6, 12, 24, 48 ó 96 h de duración. Cumplido el período de incubación los insectos de cada grupo se probaron individualmente. El porcentaje de insectos transmisores correspondiente a cada uno de los periodos de adquisición fue de 10,7, 12,4, 12,4, 10,0 y 16,0 respectivamente.

Para la determinación del período mínimo de alimentación o prueba, requerido para la transmisión del VRFM, un número de insectos expuestos que había cumplido el período de incubación fue dividido en grupos de 5 individuos. Se utilizaron 7 grupos de insectos para cada uno de los periodos de prueba, que fueron de 2, 4, 8 y 12 h de duración respectivamente. Ninguno de los grupos probados en periodos de transmisión de 2 y 4 h transmitió el virus, mientras que con periodos de transmisión de 8 y 12 h de duración, 2 de los 7 grupos en cada uno de estos periodos transmitió el virus. El período mínimo de transmisión del VRFM por *D. maidis* fue así de 8 h de duración.

#### Razas altamente transmisoras

En un primer experimento, de un número de 15 machos y 15 hembras expuestas, únicamente 2 hembras resultaron transmisoras. Una de estas hembras fue apareada con un macho no transmisor, denominándose éste el "Cruce A-1". Otra hembra no transmisora del mismo grupo fue apareada con un macho no transmisor en el "Cruce B-1". Grupos de ninfas provenientes de cada uno de los 2 cruces ( $F_1$ ) tuvieron separadamente, periodos de adquisición del virus de 5 días de duración y se mantuvieron en incubación hasta el día 15. De esta manera, 15 hembras y 15 machos fueron probados individualmente. Los resultados obtenidos aparecen en el Cuadro 1. Del número total de insectos probados en cada cruce, el 23 por ciento transmitió el virus en el cruce A-1, y 17 por ciento en el cruce B-1. Un 40 por ciento de las hembras del cruce A-1 transmitió el virus, mientras que solamente 7 por ciento de los machos lo hicieron. En el cruce B-1, 13 por ciento de las hembras y 20 por ciento de los machos resultaron transmisores.

En un segundo experimento, se seleccionaron de la  $F_1$  del cruce A-1, una hembra y un macho transmisores, que se aparearon. Este segundo cruce se denominó "Cruce A-2". De la  $F_1$  del cruce B-1 se seleccionó y apareó una hembra y un macho no transmisores, denominándose este cruce como "Cruce B-2". La progenie de estos dos cruces ( $F_2$ ) se probó en la forma descrita para la  $F_1$ . Los resultados obtenidos aparecen en el Cuadro 2. El 40 por ciento de los insectos del cruce A-2 trans-

Cuadro 1.—Transmisión del virus del rayado fino del maíz por la progenie ( $F_1$ ) de insectos transmisores y no transmisores del vector *Dalbulus maidis*.

Cruce*	Sexo**	Insectos transmisores Insectos probados	Porcentaje de transmisores por sexo	Porcentaje de transmisores por cruce
A-1	♀	$\frac{6}{15}$	40	23
	♂	$\frac{1}{15}$	7	
B-1	♀	$\frac{2}{15}$	13	17
	♂	$\frac{3}{15}$	20	

\* La progenie probada fue el producto de los cruces: A-1 hembra transmisora por macho no transmisor; B-1 hembra no transmisora por macho no transmisor.

\*\* Durante el período de incubación y conforme los insectos se transformaban en adultos eran separados por sexos y probados individualmente.

mitió el virus. De acuerdo al sexo el porcentaje de transmisores fue de 75 por ciento para las hembras y 4 por ciento para los machos. En el cruce B-2 el 28 por ciento de los insectos resultaron virulíferos y el porcentaje de transmisores de acuerdo al sexo fue de 43 por ciento y 13 por ciento para hembras y machos, respectivamente. Pudo observarse así una tendencia similar, tanto en la  $F_1$  como en la  $F_2$ , a obtener un mayor número de insectos transmisores de padres transmisores que de los no transmisores. Por otra parte, pudo notarse que el porcentaje de transmisores en el cruce B-2 fue muy similar al del cruce A-1, a pesar de que los primeros se originaron de progenitores no transmisores y los segundos de progenitores transmisores.

Observaciones posteriores mostraron que la raza altamente transmisora perdía gradualmente dicha capacidad, después de pocas generaciones de cruces libres, volviendo al nivel de transmisión usual en las poblaciones del vector, y que oscilan entre 11 y 28 por ciento aproximadamente.

#### Efecto de punciones abdominales en la capacidad de *D. maidis* de transmitir el VRFM

El efecto de las punciones abdominales en la capacidad del vector de transmitir el virus se determinó, efectuando las punciones en la manera anteriormente descrita, en ninfas de 3<sup>o</sup> y 4<sup>o</sup> instar, antes y después de la adquisición del virus. Del grupo de ninfas que recibió



Cuadro 2.—Transmisión del virus del rayado fino del maíz por la progenie ( $F_2$ ) de insectos transmisores y no transmisores del vector *Dalbulus maidis*.

Cruce*	Sexo**	Insectos transmisores Insectos probados	Porcentaje de transmisores por sexo	Porcentaje de transmisores por cruce
A-2	♀	$\frac{18}{24}$	75	40
	♂	$\frac{1}{24}$	4	
B-2	♀	$\frac{9}{21}$	43	28
	♂	$\frac{3}{23}$	13	

\* La progenie probada fue el producto de los cruces: A-2 hembra transmisora por macho transmisor ambos originados del cruce A-1 anterior. y B-2 hembra no transmisora por macho no transmisor originados del cruce B-1 anterior.

\*\* Durante el período de incubación y conforme los insectos se transformaban en adultos eran separados por sexos y probados individualmente.

la punción antes de la adquisición, 6 ninfas de 38 transmitieron el virus (16%); 5 de 27 (19%) cuando la punción fue después de la adquisición, y 3 de 25 (12%) cuando no recibieron punción.

#### Plantas silvestres como hospedantes del VRFM y *D. maidis*

Ninguna de las 8 especies silvestres probadas mostró síntomas del VRFM y el virus no se recuperó tampoco de ninguna de ellas. Fue evidente el hecho de que las especies probadas no constituían hospedantes naturales de *D. maidis*, ya que estos difícilmente se alimentaban de ellas, permaneciendo la mayor parte del tiempo posados sobre los costados de las jaulas. Los insectos morían si se mantenían sobre estas plantas por períodos mayores de 36 h.

#### Incapacidad de *Peregrinus maidis* de transmitir el VRFM

Las pruebas de transmisión del VRFM con *P. maidis* se realizaron de una manera similar a la descrita para *D. maidis*. De 12 grupos de 5 insectos expuestos y probados, ninguno transmitió el VRFM. Fue posible observar un decrecimiento rápido de la población de los insectos en prueba, ya que de los 60 con que se iniciaron las pruebas únicamente 7 vivían al terminar el experimento.

#### Discusión

El efecto de la duración del período de adquisición en el grado de transmisión del VRFM, medido en base al número total de insectos transmisores, fue aparentemente el de un ligero incremento en el número de insectos transmisores cuando el tiempo de exposición de los insectos a plantas enfermas aumentó de 6 a 96 h. Efectos similares han sido observados con otros virus propagativos en su vector (5, 6, 10, 19). Los resultados obtenidos sugieren así que en períodos de adquisición de 6 h o más, los insectos potencialmente transmisores de una colonia de *D. maidis* tienen aparentemente las mismas probabilidades de alcanzar el floema de las hojas y adquirir el virus resultando así eventualmente infectados. El período mínimo de adquisición no se determinó en este estudio ya que en el período de menor duración probado (6 h), algunos insectos adquirieron el virus. Consecuentemente su determinación requeriría de pruebas de menor duración a las aquí probadas. Otros autores, en trabajos con otros virus propagativos, han hallado este período en pruebas de duración semejante o menor a las empleadas en este estudio (5, 6, 10, 12, 19).

El período mínimo de transmisión del VRFM por *D. maidis* fue de 8 h y es mayor que el observado para otros virus y micoplasmas de gramíneas (5, 6, 12, 19). Los resultados de este estudio muestran también que el número de colonias transmisoras fue similar en períodos de transmisión de 8 a 12 h de duración. Es posible que un incremento en número de insectos transmisores pudiera haber sido detectado si los insectos hubieran sido probados individualmente y no en grupo como fue hecho.

Nuestros estudios sobre la herencia de la capacidad de transmisión del VRFM, mostraron que un número considerablemente mayor de insectos virulíferos se obtuvo de progenitores virulíferos que de no virulíferos; en la  $F_2$  de insectos transmisores se registró un 40 por ciento de insectos virulíferos en comparación con un 28 por ciento mostrado por la progenie de padres no transmisores. Resultados similares se han obtenido con otros virus propagativos en saltahojas (2, 6, 11, 13, 18, 23). El alto porcentaje de insectos virulíferos en la progenie de insectos transmisores se debió a que en la  $F_2$  un 75 por ciento de las hembras eran transmisoras. Estos resultados confirman observaciones anteriores de una mayor eficiencia de las hembras de *D. maidis* como vectores del VRFM (8, 9). El tipo de herencia de la capacidad de *D. maidis* de transmitir del VRFM es muy similar al observado por otros autores (2, 6, 11, 13, 18, 20, 21), para otros virus.

La presencia de una barrera física que impide el paso del virus del tracto digestivo del insecto a la hemolinfa no parece ser la razón que explique la existencia de razas del insecto con grados diferentes de capacidad de transmitir el virus (2, 3, 16, 17, 23). Nuestros resultados muestran apenas un ligero incremento, en el número de insectos virulíferos, cuando las ninfas de *D. maidis* sufrieron punción abdominal inmediatamente antes o después de adquirir el virus. Resultados similares fueron obtenidos por Sinha (17) con el virus del tumor de heridas transmitido en forma propagativa por

*Agallia constricta* Utilizando punciones abdominales con la especie *Cicadulina mbila*, y el virus del estriado del maíz, Storey (22) logró convertir razas no transmisoras en transmisoras. A diferencia de nuestro caso, este virus no es propagativo en su vector.

Las plantas probadas en nuestro trabajo como posibles hospedantes del virus y su vector, fueron seleccionadas con base en su abundancia en las cercanías de plantaciones de maíz, y no por que existiera alguna relación taxonómica cercana al maíz. Ninguna de ellas se comportó como hospedante del VRFM o de *D. maidis*. Otros autores han hallado en México y los Estados Unidos únicamente dos especies, además del maíz, en las que *D. maidis* puede alimentarse, *Euchlaena mexicana* Schrad (teosintle), y *Tripsacum dactyloides* (L.) L. (1, 14, 15). La relación biológica entre el VRFM, su insecto vector y la planta hospedante parece ser sumamente específica y estrecha ya que hasta el presente las únicas plantas conocidas en que virus y vector pueden multiplicarse son maíz y teosintle (8). No se ha determinado si *T. dactyloides*, es susceptible al VRFM. Tampoco ha sido posible encontrar otro vector del virus; nuestros estudios demuestran que *P. maidis* no transmite el VRFM, no habiendo sido posible hasta el presente en nuestros estudios colectar otro saltahojas que se alimente en maíz y pueda constituir un vector potencial del virus.

#### Agradecimientos

La identificación de las especies de plantas silvestres fue gentilmente realizada por el Dr. I. A. Fournier, Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, y la de *P. maidis* por el Ing. Luis A. Salas, Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica.

#### Literatura citada

- BARNES, D. Biología, ecología y distribución de las chicharritas, *Dalbulus eliminatus* (Ball) y *Dalbulus maidis* (De L. & W.). México Secretaría de Agricultura y Ganadería. Oficina de Estudios Especiales, Folleto Técnico N° 11. 1951. 112 p.
- BLACK, I. M. Genetic variation in the clover leafhopper's ability to transmit potato yellow-dwarf virus. *Genetics* 28:200-209. 1943.
- . Transmission of plant viruses by cicadellids. In Smith, K. M. y Lauffer, M. A. *Advances in Virus Research*. New York, Academic Press, 1953. Vol. 1, pp. 69-89.
- . Biological cycles of plant viruses in insect vectors. In Burnet, F. M. and Standley, W. M. eds. *The Viruses*. New York, Academic Press, 1959. Vol. 2, pp. 157-184.
- CHIU, R. J., JEAN, J. H., CHEN, M. H. y LO, T. H. Transmission of transitory yellowing virus of rice by two leafhoppers. *Phytopathology* 58(6):740-745. 1968.
- GALVEZ, G. E. Transmission studies of the hoja blanca virus with highly active, virus-free colonies of *Sogatodes oryzicola*. *Phytopathology* 58(6):818-821. 1968.
- GAMEZ, R. A new leafhopper-borne virus of corn in Central America. *Plant Disease Reporter* 53(12):929-932. 1969.
- . Transmission of rayado fino virus of maize (*Zea mays*) by *Dalbulus maidis*. *Annals of Applied Biology* 73(3):285-292. 1973.
- GONZALEZ, V. y GAMEZ, R. Algunos factores que afectan la transmisión del virus del rayado fino del maíz por *Dalbulus maidis* DeLong & Wolcott. *Turrialba* 24(1):51-57. 1974.
- JENSEN, D. D. Reduction in longevity of leafhoppers carrying peach yellow leaf roll virus. *Phytopathology* 48(8):394. 1958.
- KISIMOTO, R. Genetic variation in the ability of a planthopper vector; *Laodelphax striatellus* (Fallén) to acquire the rice stripe virus. *Virology* 32(1):144-152. 1967.
- McMILLIAM, W. W., MacGUIRRE, J. V. y LAMEY, H. A. Hoja blanca transmission studies on rice. *Journal of Economic Entomology* 55(5):796-797. 1962.
- NAGARAJ, A. N. y BLACK, I. M. Hereditary variation in the ability of a leafhopper to transmit two unrelated plant viruses. *Virology* 16(2):152-162. 1962.
- PITRE, H. N. Greenhouse studies of the host range of *Dalbulus maidis*, a vector of the corn stunt virus. *Journal of Economic Entomology* 60(2):417-421. 1967.
- PITRE, H. N., COMBS, R. L. y DOUGLAS, W. A. Gamagrass, *Tripsacum dactyloides*, a new host of *Dalbulus maidis*, vector of corn stunt virus. *Plant Disease Reporter* 50(8):570-571. 1966.
- SINHA, R. C. Comparison of the ability of nymph and adult *Delphacodes pellucida* Fabricius, to transmit European wheat striate mosaic virus. *Virology* 10(3):314-352. 1960.
- . Effect of age of vector and of abdomen punctures on virus transmission. *Phytopathology* 53(10):1170-1173. 1963.
- . Recent work on leafhopper-transmitted viruses. In Smith, K. M. y Lauffer, M. A. *Advances in Virus Research*. New York, Academic Press, 1968. Vol. 13, pp. 181-221.
- , y WATSON, M. A. Striate mosaic of cereals in Europe and its transmission by *Delphacodes pellucida* (Fab.). *Annals of Applied Biology* 46(4):542-553. 1958.
- STOREY, H. H. The inheritance by an insect vector of the ability to transmit a plant virus. *Proceedings of the Royal Society. Serie B* 112:46-60. 1932.
- . Investigations of the mechanism of the transmission of plant virus by insect vectors, 1. *Proceedings of the Royal Society. Serie B* 113:463-485. 1933.
- . Investigations of the mechanism of the transmission of plant viruses by insect vectors; 11. The part played by puncture in transmission. *Proceedings of the Royal Society. Serie B* 125(841):455-477. 1938.
- WATSON, M. A. y SINHA, R. C. Studies on the transmission of European wheat striate mosaic virus by *Delphacodes pellucida* Fabricius. *Virology* 8(2):139-163. 1959.

# Factors affecting the **in vitro** digestibility of tropical grasses\*

S. J. COWLISHAW\*\*, E. F. UNSWORTH\*\*\*

## COMPENDIO

*En el curso de trabajos para establecer una rutina para la determinación in vitro de la materia orgánica (M.O.D.) de pastos tropicales que estaban evaluándose agrónomicamente, se estudiaron en 9 experimentos los efectos de varias variables*

*Los valores M.O.D. no fueron afectados al dar al ovino donador un suplemento de proteína, o al secar las muestras a 65° ó 105°C. Se encontró aconsejable usar licor del rumen de más de un donador, para estandarizar el momento de su recolección en relación con la comida previa, usar un ración parcial para humedecer las muestras al comienzo del paso 1, y paralizar la fermentación al final sin usar cloruro mercúrico*

*Los valores M.O.D. de una muestra de pobre calidad (1,5 por ciento P.C.) fueron aumentados al moler dos veces la muestra, y al incluir 6 mg of N-urea en la solución tampón agregada para el paso 1 con licor del rumen. La prolongación del paso 1 de 48 a 72 horas aumentó la cantidad de M.O. digerida en una diversidad de muestras, y la adición de urea aumentó la tasa de digestión, ocurriendo el aumento más grande en las muestras de calidad pobre. Se propone la ecuación asintótica  $Y = A + Be^{-kt}$  para describir la tasa digestión.*

*La digestión en pepsina ácida por 24 horas aumentó la cantidad de M.O. digerida, pero su continuación por otras 24 horas no tuvo efecto con muestras que contenían hasta 22,6 por ciento de P.C. — Los autores.*

### Introduction

**D**URING the period 1965 to 1973 over 100 tropical pasture grass species and strains were introduced into Trinidad and established on the University Field Station. As part of the screening process, the D.M. or O.M. digestibility of dried samples was estimated using the two-stage *in vitro* method originally described by Tilley and Terry (12). The method was modified to suit local humid tropical conditions as

a result of a series of trials described here, which tested recommendations made by Minson and McLeod (9), and others (1, 13).

An automated routine system of determining the *in vitro* digestibility of tropical grasses was developed.

### Materials and methods

#### General

Samples of grasses were dried at 100°C in most experiments and milled through the 1.0 mm screen in a 20 cm 'Christy and Norris' hammer mill. In some trials samples were redried and passed through the 0.8 mm screen in a small laboratory mill. Approximately 0.5 g of sample was weighed into each polycarbonate centrifuge tube, and 2 g samples were used to determine

\* Received for publication July 15th, 1975.

\*\* Department of Livestock Science, The University of the West Indies, St. Augustine, Trinidad. Present address: 3a Snowdon Road, Bournemouth, Dorset BH1 9HL, U.K.

\*\*\* Department of Agriculture, Agricultural and Food Chemistry Division, New Forge Lane, Belfast BT9 5PX, Northern Ireland.

per cent D.M. and O.M. Details of the age and chemical composition of the grass samples are given in Table 1.

Rumen fistulated sheep were kept in pens and given food and water *ad lib*. When the quality of the fresh Pangolagrass was low, a small amount of concentrate was also provided to raise the total dietary protein level to 10 per cent. Food was normally withdrawn 16 h before liquor was collected via a fistula using a vacuum pump, transported in vacuum flasks to the laboratory, and strained through several layers of nylon muslin.

The buffer solution was made up in two parts that were mixed with the rumen liquor just prior to inoculation of the tubes containing the grass samples. Normally 3 tubes/treatment were used as sufficient for the accuracy desired (C.V. < 2 per cent). CO<sub>2</sub> was bubbled through the buffer solution and the rumen liquor before and during inoculation of the tubes and, in later experiments, it was passed into each tube as it was filled. All the liquids and the tubes were kept at 38-39°C in water baths or incubators both before and after filling, and the mixture in the tubes was tested to ensure that the pH remained within the limits 6.7-7.0. McLeod\* recommended that the filling of tubes be done in 2 stages, the first 25 ml added being entirely of buffer solution with a vacuum applied to make all the grass particles sink before the rest of the buffer and the rumen liquor are added, thus reducing variability between replicates particularly when the sample is very fibrous. For the last 3 experiments this was done in an adapted dessicator jar; inclusion of the rumen liquor caused too much frothing. The tubes were filled from automatic pipettes filled by syphon from flasks immersed in a water bath and stirred by a stream of CO<sub>2</sub> gas.

Stage 1 fermentation was usually stopped after 48 h by removal from the incubator and centrifuging for 10 min., mercuric chloride (HgCl<sub>2</sub>) being added as a routine in Experiments 1, 3 and 5 and as a treatment in Experiment 2. As filter sticks were unobtainable in Trinidad, the supernatant liquid was decanted off the residue through a short muslin-covered plastic tube of slightly smaller diameter than the centrifuge tubes. Particles caught on the muslin were washed back into the tube.

After digestion in acid pepsin (50 ml usually for 48 h), tubes were centrifuged and residues washed into tared glass beakers or nickel crucibles for drying and, in later experiments, ashing for 16 h at 550°C.

Details of the treatment of the samples in each experiment are given in Table 2 and below. In all but Experiment 5, standard samples 1 and/or 2 (Table 1) were included, and, in the last 4 experiments, the results from each run were adjusted so that the O.M.D. of samples 1 and 2 milled twice and digested with urea for 48 h in stages 1 and 2 were 60.5 and 35.2 per cent, respectively. Analyses of the variances for the data

Table 1.—The age, and per cent ash, crude protein and crude fibre contents of the dry matter of 8 grass samples used in Experiments 1 to 9.

Sample number	Species	Age of regrowth (weeks)	ash %	C.P. %	C.F. %
1	Mixed species (standard)	4-6	12.0	11.1	31.1
2	<i>Hemarthria altissima</i>	21	4.5	1.5	39.8
3	<i>Digitaria decumbens</i>	2	9.9	22.6	24.1
4	<i>Digitaria decumbens</i>	4	10.0	16.5	27.7
5	<i>Digitaria decumbens</i>	8	10.8	7.3	36.8
6	<i>Digitaria decumbens</i> (Pangola)	2-10	—	—	—
7	<i>D. milanjima</i> subsp. <i>eylesiana</i>	8	8.8	9.0	30.2
8	<i>Brachiaria</i> sp. (Tanner grass)	11	6.8	5.0	—

from all the experiments included values from individual tubes. Where one tube differed by more than 4 digestibility units from the others in that treatment, this datum was omitted.

#### Experiment 1

The sheep were offered Pangolagrass (5.2-5.6 per cent C.P.) and a protein supplement. Liquor was collected from each sheep and used separately or as a mixture to digest standard grass sample 1. The first stage fermentation was stopped by refrigeration for 30 min. at -5°C; both stages lasted for 48 h.

#### Experiment 2

Samples of rumen liquor were collected at 8.00, 10.15 and 13.30 on two successive Mondays and used to inoculate tubes within 30 min. Fermentation was stopped by cooling or by adding HgCl<sub>2</sub>. Standard sample 1 was digested in 2 runs for 48 h in each stage.

#### Experiment 3

Half the residues from the digestion of sample 1 were washed with water and centrifuged a second time after each stage. Half the tubes were flushed with CO<sub>2</sub> between inoculation and insertion of the rubber bungs with bunsen valves.

#### Experiment 4

Liquor was collected from individual donor sheep after a week on Pangolagrass alone or supplemented with a concentrate. Diets were reversed and the experiment repeated the following week.

\* McLeod, M. N. Personal communication 1975.

Table 2—Treatments applied to grass samples in Experiments 1 to 9

Exp. No	Grass sample used*	Drying temp (°C)	Times milled	Tubes/treatment	Vacuum applied	Urea in buffer solution	Length of digestion	
							stage 1	stage 2
1	1	100	1	5	no	—	48	48
2	1	100	1	6	no	—	48	48
3	1	100	1	8	no	—	48	48
4	1	100	1	5	no	—	48	48
5	6	100	1	2	no	—	6, 72	0
6	1	100	1.2	3	no	— & +	48	0, 24, 48
6	2	65, 105	1.2	3	yes	— & +	48, 72	0, 24, 48
8	1, 3, 4, 5	100	2	3	yes	— & +	48	24, 48
9	1 2, 7, 8	100	2	3	yes	+	48, 72	24, 48

\* See Table 1 for details

#### Experiment 5

Pangolagrass was harvested 2.5, 6.5 or 10.5 weeks after being cut back and dressed with 131 kg N/ha. Samples were fermented for 5.5, 12, 24, 36, 48 or 72 h with rumen liquor and buffer solution after which  $\text{HgCl}_2$  was added and the tubes refrigerated before the residues were dried without a stage 2 digestion.

#### Experiment 6

Standard sample 1 was milled once or twice, 6 mg of urea-N was added to half the tubes and stage 2 digestion was continued for 0, 24 or 48 h.

#### Experiment 7

Standard sample 2 of very low quality was dried at 65° or 105°C, milled once or twice, and incubated with or without 6 mg of urea-N in the buffer solution for 48 h, and then for 0 or 48 h in acid pepsin. In run 2 urea was included in all the buffer solution and stage 1 fermentation continued for 48 or 72 h, followed by 24 h in acid pepsin. Standard sample 1 with urea-N was included in both runs.

#### Experiment 8

Three samples of *D. decumbens* of different ages (Table 1) and standard sample 1, with digestibilities ranging from 55 to 70 per cent, were fermented with or without 6 mg of urea-N in stage 1, and for 24 or 48 h in stage 2.

#### Experiment 9

Standard samples 1 and 2 were included along with samples 7 and 8 (Table 1) to provide a range in digestibility from 35 to 62 per cent. Urea was included in all the buffer solution, and samples fermented for 48 or 72 h in stage 1, followed by 24 or 48 h in acid pepsin.

#### Results

##### Experiment 1 (Table 3)

The D.M.D. of standard sample 1 was the same whichever donor sheep was used to provide liquor for stage 1 fermentation. When mixed liquor was used, there was a significant ( $P < 0.001$ ) improvement in D.M.D. There was a significant ( $P < 0.001$ ) difference between runs.

##### Experiment 2 (Table 4)

The addition of  $\text{HgCl}_2$  to stop fermentation significantly ( $P < 0.001$ ) reduced the D.M.D. of sample 1 by 3.2 per cent. There was a significant ( $P < 0.001$ ) difference between runs. Collecting liquor at 10.15 resulted in slightly lower D.M.D. values in run 2, the interaction between time of collection and run being significant ( $P < 0.01$ ).

##### Experiment 3

The D.M.D. of sample 1 was 61.2 per cent when washing and centrifuging was done twice at the end of

Table 3—The *in vitro* dry matter digestibility of a standard grass sample when incubated with rumen liquor donated by one of two sheep

Donor sheep	D M digestibility (%)			
	run 1		run 2	Means
A	59.8	—	61.8	60.8
B	59.3	—	61.5	60.4
A+B	61.4	—	63.0	62.2
SE ( $\pm$ ) of means	—	0.40	—	0.28
means	60.2	—	62.1	—
SE ( $\pm$ ) of means	—	0.23	—	—

Table 4—The effects of run, rumen liquor collection time, and the use of HgCl<sub>2</sub> to stop stage 1 fermentation on the *in vitro* dry matter digestibility of a standard sample of dried grass

Liquor collection time	D M digestibility (%)				
	With HgCl <sub>2</sub>		Without HgCl <sub>2</sub>	Means	
Run 1 {	8.00	58.2	—	62.7	60.5
	10.15	58.6	—	60.9	59.7
	13.30	58.6	—	59.9	59.3
Run 2 {	8.00	57.8	—	58.3	58.0
	10.15	55.5	—	58.1	56.8
	13.30	58.4	—	58.9	58.6
SE ( $\pm$ ) of means	—	0.48	—	—	0.34
Run 1 means	58.5	—	61.2	59.82	
Run 2 means	57.2	—	58.4	57.85	
SE ( $\pm$ ) of means	—	0.28	—	—	0.200
8.00 means	58.0	—	60.5	59.24	
10.15 means	57.1	—	59.5	58.28	
13.30 means	58.5	—	59.4	58.95	
SE ( $\pm$ ) of means	—	0.32	—	—	0.225
+ or — HgCl <sub>2</sub> means	57.86	—	59.79	—	
SE ( $\pm$ ) of means	—	0.200	—	—	

each stage and 60.5 per cent when done only once. Flushing the tubes with CO<sub>2</sub> after filling also had no significant ( $P=0.05$ ) effect (D.M.D. 60.9 per cent).

#### Experiment 4

The D.M.D. of standard sample 1 was 60.7 per cent with and without supplementary protein in the diet of the donor sheep.

#### Experiment 5 (Table 5)

The data were fitted to a cubic equation ( $Y=A+BX-CX^2+DX^3$ ) and to an asymptotic equation ( $Y=A+Be^{-kx}$ ) in which the D.M.D. ( $Y$ ) was related to digestion time ( $X$ ) in hours. The data fitted the asymptotic curves better than the cubic, particularly when  $X$  was 72 or more. Digestion of all 3 samples was not completed after 72 h in stage 1, and 116.3, 120.3 and 164.3 h respectively would have been needed to bring 99 per cent of the potentially digestible D.M. of the 3 samples into solution. No estimate was possible of the additional D.M. that would have been digested in acid pepsin.

Table 5.—Estimated parameter values used in fitting *in vitro* D.M. digestibility data to an asymptotic response curve.\*

	Age of regrowth (weeks)		
	2.5	6.5	10.5
D.M. digestibility after 48 h stage 1	57.0	51.6	44.2
D.M. digestibility after 72 h stage 1	60.5	54.4	51.0
Parameter A (asymptote)	64.57	59.51	60.03
SE ( $\pm$ )	3.787	2.549	4.680
Parameter B	-64.52	-60.96	-62.70
SE ( $\pm$ )	3.540	2.314	3.718
Parameter k	0.04	0.01	0.03
Parameter R (exponent of $-k$ )	0.96	0.96	0.97
SE ( $\pm$ )	0.007	0.005	0.005
Residual standard deviations ( $\pm$ )	3.206	2.078	2.400
Time needed to reach 95 per cent of asymptote (h)	75.7	78.5	107.4
Time needed to reach 99 per cent of asymptote (h)	116.3	120.3	164.3

\*  $Y = A + Be^{-kx}$ .

Table 6—The effects of adding urea to the buffer solution in stage 1 and of digesting in stage 2 for 0, 24 or 48 hours on the O.M. digestibility of a standard sample of dried grass

Length of stage 2 digestion (h)	O.M. digestibility (%)			
	0	24	48	Means
— urea	52.6	61.5	60.5	58.18
+ urea	55.0	59.8	61.1	58.63
S.E. ( $\pm$ ) of means	—	0.68	—	0.395
digestion time means	53.78	60.64	60.80	—
S.E. ( $\pm$ ) of means	—	0.483	—	—

#### Experiment 6 (Table 6)

Digesting for 24 or 48 h in acid pepsin after 48 h in stage 1 significantly ( $P < 0.001$ ) increased by 12.9 per cent the amount of O.M. digested, but there was no significant ( $P = 0.05$ ) difference between 24 and 48 h for stage 2 digestion of this particular sample. The addition of urea to stage 1 fermentation only had a significant ( $P < 0.05$ ) effect when there was no stage 2 digestion.

#### Experiment 7 (Table 7)

Drying samples at 65° rather than 105°C had no significant ( $P = 0.05$ ) effect on the O.M.D. of the poor quality standard sample 2.

Double milling significantly ( $P < 0.001$ ) increased O.M.D. by 15.5 per cent when stage 1 lasted for 48 h and there was no stage 2; by 7.2 per cent when stage 1 lasted for 72 h and stage 2 for 48 h.

The addition of urea significantly ( $P < 0.001$ ) increased O.M.D. by 10.5 per cent. There was a significant ( $P < 0.01$ ) interaction between urea and length of digestion in stage 1. When stage 1 was for 48 h, increasing the length of stage 2 from 24 to 48 h did not increase D.O.M. either in the presence or absence of urea. When stage 2 digestion was for 24 h, 12.1 per cent more O.M. was digested in the presence than in the absence of urea after 48 h of stage 1 digestion, but the difference was only 3.9 per cent after 72 h of stage 1. Increasing stage 1 digestion from 48 to 72 h significantly ( $P < 0.001$ ) increased O.M.D. by 19.5 per cent when urea was added, and by 28.7 per cent when it was not.

#### Experiment 8 (Table 8)

Digesting for 48 h in stage 2 slightly (1.9 per cent) but significantly ( $P < 0.05$ ) increased the amount of O.M. digested in all 4 samples. The addition of urea

also slightly but significantly increased the O.M.D. of the 4 grasses. The D.O.M. per cent of the 4 grasses differed significantly ( $P < 0.001$ ), but there were no significant ( $P = 0.05$ ) interactions with other treatments.

#### Experiment 9 (Table 9)

When stage 1 fermentation was increased from 48 to 72 h, there was a significant ( $P < 0.001$ ) increase in O.M. digested, 4.8 per cent when stage 1 lasted for 24 h and 9.5 per cent when it lasted for 48 h, the interaction between stages being significant ( $P < 0.05$ ). Digesting for 24 or 48 h in stage 2 had the same effect on O.M.D. The O.M. digestibilities of grass samples 1 and 7 were very similar (mean 63.15 per cent) and significantly ( $P < 0.001$ ) greater than that of sample 8 (51.51 per cent), which was greater than that of standard sample 2 (37.74 per cent).

Table 7—The effects of milling twice, urea in the buffer solution, and digestion for 48 or 72 hours in stage 1 and for 0, 24 or 48 hours in stage 2 on the O.M. digestibility of standard sample 2.

	Digestion length (h)		O.M. digestibility (%)		
	Stage 1	Stage 2	Milled 1	Milled 2	Means
— urea	48	0	26.3	29.8	28.1
		24	28.4	31.3	29.8
		48	26.4	30.1	28.3
		72	36.8	40.0	38.4
+ urea	48	0	28.9	33.9	31.4
		24	31.6	35.2	33.4
		48	30.8	35.2	33.0
		72	38.7	41.0	39.9
S.E. ( $\pm$ ) of means		—	0.43 (n.s.)	0.31	
— urea means		29.5	32.5	31.14	
+ urea means		32.8	36.3	34.41	
S.E. ( $\pm$ ) of means		—	0.22 (n.s.)	0.151	
48/0 means		27.6	31.9	29.74	
48/24 means		30.0	33.2	31.60	
48/48 means		28.6	32.6	30.63	
72/24 means		37.8	40.5	39.12	
S.E. ( $\pm$ ) of means		—	0.31	0.214	
Milling means		31.00	34.55	—	
S.E. ( $\pm$ ) of means		—	0.151	—	

Table 8—The effects of adding urea to stage 1 and digesting for 24 or 48 hours in stage 2 on the O.M. digestibility of 4 grass samples

Length of stage 2 digestion (h)		O.M. digestibility of grasses (%) <sup>a</sup>				
		3	4	1	5	Means
— urea	24	66.8	63.2	58.5	53.5	60.5
	48	68.0	65.9	60.7	51.7	61.6
+ urea	24	70.3	63.1	59.6	52.4	61.4
	48	70.4	65.2	60.5	54.5	62.7
S.E. ( $\pm$ ) of means		—	—	0.92 (n.s.)	—	0.46 (n.s.)
— urea means		67.4	64.6	59.6	52.6	61.03
+ urea means		70.1	64.2	60.0	53.5	62.01
S.E. ( $\pm$ ) of means		—	—	0.65 (n.s.)	—	0.325
24 h means		68.6	63.2	59.0	53.0	60.94
48 h means		69.2	65.6	60.6	53.1	62.10
S.E. ( $\pm$ ) of means		—	—	0.65 (n.s.)	—	0.325
Grass means		68.9	64.4	59.8	53.0	—
S.E. ( $\pm$ ) of means		—	—	0.46 (n.s.)	—	—

<sup>a</sup> See Table 1 for details.

Table 9—The effects of digesting for 48 or 72 hours in stage 1 and for 24 or 48 hours in stage 2 on the O.M. digestibility of 4 grass samples

Length of digestion (h)		O.M. digestibility of grasses (%) <sup>a</sup>				
Stage 1	Stage 2	1	7	8	2	Means
48	24	62.8	62.8	48.2	35.9	52.42
	48	60.5	60.8	50.1	35.2	51.64
72	24	64.2	63.9	52.2	39.6	54.96
	48	64.8	65.5	55.5	40.4	56.53
S.E. ( $\pm$ ) of means		—	—	0.95 (n.s.)	—	0.474
48 h means		61.7	61.8	49.2	35.5	52.03
72 h means		64.5	64.7	53.8	40.0	55.75
S.E. ( $\pm$ ) of means		—	—	0.67 (n.s.)	—	0.335
24 h means		63.5	63.3	50.2	37.7	53.69
48 h means		62.7	63.1	52.8	37.8	54.09
S.E. ( $\pm$ ) of means		—	—	0.67 (n.s.)	—	0.335 (n.s.)
Grass means		63.08	63.22	51.51	37.74	—
S.E. ( $\pm$ ) of means		—	—	0.474 (n.s.)	—	—

<sup>a</sup> See Table 1 for details.



### Discussion

#### Activity of rumen liquor

The activity of the liquor collected from individual sheep on different days may vary (14), although this is not likely if the feed quality and routine are fixed (7). As it is difficult to ensure uniform quality of feed in an environment such as that in Trinidad, where the high rainfall and humidity prevent regular making of good quality hay, it is safer in such circumstances to use mixed liquor from more than one animal, although this will not by itself ensure high activity. As was shown in Experiments 1 and 2, there may be significant differences between runs in which the same treatments and samples are used. In the latter experiment there was also a difference associated with time of collection in one run, but this could have been caused by an unnoticed variation in laboratory routine. Others have not recorded any differences associated with length of time between withdrawal of food and collection of liquor (1).

Checking and correcting for variations in rumen liquor activity between runs was aided by the inclusion of one or two standard samples, depending on the range in digestibilities expected between the samples in the run. If, as happened once, the results for these standards in a run varied by more than 5 digestibility units from expectation, all the results from this run should be rejected.

#### Diet of donor animals

It is generally recommended that the quality of the roughage on offer to donor animals should be high (13), and a minimum C.P. content of 10 per cent has been suggested\*. This may not be necessary when a tropical breed of animal is used, as they utilise the N in low quality roughages more effectively than temperate breeds (5) by recycling of urea through the salivary glands, particularly when there is an adequate supply of dietary energy. This may explain the lack of response in Experiment 4 to the addition of a protein concentrate to a low quality (6 per cent C.P.) roughage diet provided for the donor sheep. Care must be taken to avoid feeding too much soluble carbohydrate, as this may cause the pH of the rumen liquor to fall below 6.8 and decrease digestibility (7, 10).

#### Number of replications

In early trials up to 8 replicates per treatment were used to measure small differences. In later trials 3 replicates were used rather than the 2 recommended (9, 13) so that an anomalous result could easily be seen, and the remaining 2 replicates were sufficient to give a good estimate of that treatment effect on D.M.D. or O.M.D. The 3 blocks of tubes were filled in turn so that variations in liquor activity or quantity of liquor

D.M./tube could be observed. All block variance ratios in these experiments were very small (average 0.88) and non-significant ( $P=0.05$ ).

#### Urea nitrogen supplementation of stage 1 fermentation

To ensure that there is an adequate amount of N available to the rumen flora for maximum possible *in vitro* digestion of structural carbohydrates, the buffer solution may be fortified with 6 (10) or 10 (6) mg of urea-N. The addition of 6 mg/tube had no effect on the quantity of O.M. in sample 1 digested except when stage 2 was omitted (4.9 per cent increase), probably because there was an adequate level of N in the sample (11.1 per cent C.P.). With a low quality (1.5 per cent C.P.) sample, varying the length of stage 2 from 0 to 24 or 48 h had no consistent effect on the response to added urea-N. Increasing the length of stage 1 from 48 to 72 h reduced the effect of urea-N on D.M. digestibility.

In Experiment 8 the poorest sample contained 7.3 per cent C.P. and added urea-N had only a very small effect. Raymond and Terry (10) got no response to the addition of N when the diet of the donor sheep was 9.4 per cent C.P. hay, but there was a response when the diet was 3.1 per cent straw. Alexander and Mc Gowan (1), using temperate type sheep, recorded a negative correlation ( $r=0.79$ ) between response to added N and C.P. content of 21 samples (range 6.1 to 25.0 per cent). The minimum amount of N required in the combined substrate and rumen liquor for maximum digestion of O.M. is not known, but the results show that the adverse effects of low N can be overcome by increasing the length of stage 1 fermentation to 72 h.

#### Drying temperature

There was no difference in the O.M.D. of a sample dried at 65° or at 105°C. Tilley and Terry (13) reported no difference between freeze-drying and oven-drying (100°C), but repeated re-drying, drying for several days, or drying at more than 100°C caused a loss of D.M. Rapid drying at 100°C and rejection of any unused sample after re-drying was adopted as part of the routine.

#### Milling of samples

It has been stated (7) that a far higher standard of control of this two-stage technique is necessary for tropical pasture grasses than appears needed for temperate grasses. One probable reason for this is the higher fibre content of tropical grasses, even when young. When milled once through a 1.0 mm screen, the samples often contained quite large particles of fibrous matter, which made accurate sub-sampling very difficult. By regrinding in a small mill these large particles were broken down and digestibility increased, as it was when a smaller screen size was used for tropical grass samples (7, 16) but not with temperate species (12). The coefficient of variation was 1.50 per cent in Experiment 8 (mean O.M.D. was 61.5 per cent) and 1.90 per

\* Terry R. A. Personal communication 1970

cent in Experiment 7 (mean O.M.D. was 31.6 per cent) supporting the view (4) that variability was negatively correlated with quality of sample.

#### *Length of stage 1 fermenta*

Digestion with rumen microorganisms is necessary in order to bring into solution those fractions of the structural carbohydrate that would be digested by the animal. The length of time required will depend on the per cent crude fibre, how lignified it is, how small the particles are, and the supply of other nutrients needed by the bacteria for maximum activity. The effect of added N has already been discussed.

In Experiment 5 the rate of digestion of D.M. was greatest with the youngest sample, and least with the oldest, but the difference between them was less than that between 2 samples of Rhodes grass used by Wilkins (15) in a study of cellulose digestion *in vitro* (see Fig. 1). For 13 forages (16) the cellulose digestibility data for 48 and 72 h incubation also fell between the 2 Rhodes grass curves unless a mixture of glucose, urea and yeast extract had been added to the substrate. This caused a more rapid rate of digestion in the first 48 h

but no greater maximum digestion after 6 days. The rate of digestion of the D.M. in a sample of *Setaria* (7) was similar to that of the better Rhodes grass sample for the first 12 h but, because the maximum digestibility was less, the rate of digestion then became less and, by 72 h, the same amount of D.M. had been digested as in the 2.5-week-old Pangolagrass in Experiment 5. Samples with the same terminal digestibility may be broken down by rumen bacteria *in vitro* at quite different rates depending on the ratio of cellulose to hemicellulose (10). As expected from the above considerations, increasing stage 1 digestion time from 48 to 72 h in Experiments 7 and 9 increased the amount of O.M. digested. The increase was greatest (23.8 per cent) with standard sample 2 of low digestibility and least (4.6 per cent) with the samples of highest digestibility. When samples are finely ground and urea is added to the buffer solution, the probable increase in digestibility brought about by digesting for 72 h, instead of the standard 48 h, will be less than 5 per cent when the 48 h O.M.D. is over 60 per cent. With poor quality samples, a longer stage 1 digestion will give results that are nearer to those likely *in vitro*, because rate of passage of digesta is slower with feeds of low digestibility (15, 16).

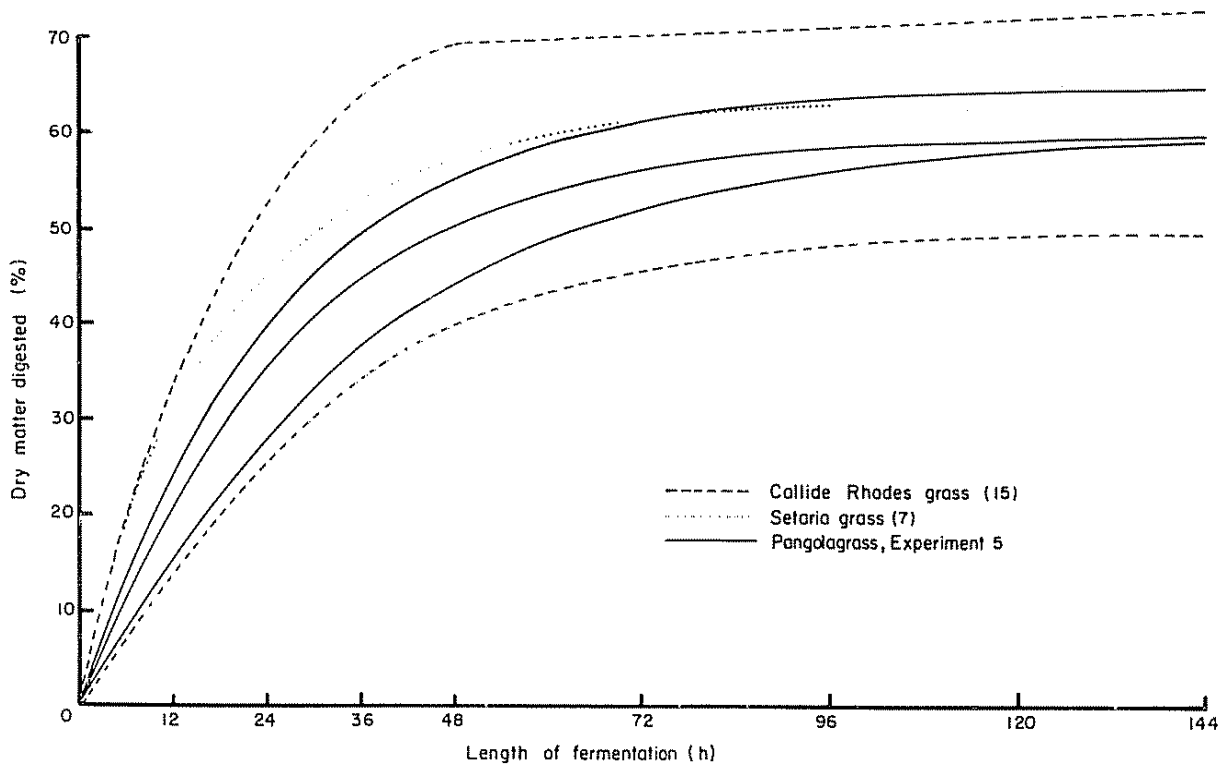


Fig. 1—Effect of length of fermentation in rumen liquor on the amount of dry matter digested in 6 samples of tropical grasses: data fitted to the asymptotic equation  $Y = A + Be^{-kx}$

### Ending fermentation

It is important to have full fermentation for the whole period of stage 1 and to stop it completely as soon as the time is expired, otherwise variability increases and the smaller differences cease to be significant statistically. It has been reported (8) that treatment with a partial vacuum of the sample and some of the buffer solution in the tubes before the rumen liquor is added increased digestibility by 3.9 per cent and decreased the SE of estimate from  $\pm 1.96$  to 1.49. In the present study, the effect was not measured, but decantation at the end of stage 1 was much easier.

Mercuric chloride solution stops fermentation at once, but the reduction in per cent DOM when it was used may have been the result of traces of  $HgCl_2$  left in the scratched plastic tubes reducing the activity of the acid pepsin in stage 2 (9), although Tilley and Terry (13) state that this will not occur. There was also the danger that these residual traces would reduce the activity of the rumen liquor in subsequent runs using the same tubes. It is therefore recommended that new tubes be used and no mercuric chloride. Rapid centrifuging, and decantation ensured a low coefficient of variation (<2 per cent). Washing the residues in water and a second centrifuging before stage 2 had no effect on digestibility values in Experiment 3 or in trials by Minson and McLeod (9).

### Length of stage 2 digestion

When there was no stage 2 digestion in acid pepsin, less OM was brought into solution when the sample contained 11.1 per cent CP but not when it contained only 1.5 per cent CP. Thus, for feeds of better quality, digestion in acid pepsin is needed to bring all the digestible protein into solution (11, 12, 13). A period of 2.4 h was all that was needed to digest this protein in these experiments even with 22.6 per cent CP and 70 per cent DOM.

### Organic matter digestibility

Because some ash is digested and soil contamination is difficult to avoid, it is considered better to express results in terms of organic matter digestibility (13) even though this involves extra work and may make the relationship between *in vitro* and *in vivo* results difficult to determine because of the endogenous excretion of minerals. As *in vivo* digestibility values are affected by a number of factors including level of intake, and the *in vitro* technique is normally used (13) for the rapid comparison of large numbers of samples, it would appear unnecessary in most cases to establish very accurate predictive equations for each species.

### Recommendations on laboratory procedures

Liquor should, where possible, be drawn from more than one animal donor and used as quickly as possible. It should be kept in a thermos flask at its original

temperature and filtered through a double layer of nylon muslin. The donor sheep should be maintained on a good quality roughage diet free of starch.

As a safeguard, the buffer solution should contain urea and part of it added to each tube initially, followed by partial evacuation of air to thoroughly wet the finely-ground sample. The rest of the buffer solution mixed with the rumen liquor should then be added to the tubes and the bunsen valves inserted.

It is advisable to use 3 tubes per sample and to include 1 or 2 standard samples in each run.

For comparing poor quality samples a stage 1 fermentation period of 72 h should be used. Mercuric chloride should not be used to stop fermentation. A 2.4 h stage 2 digestion is all that is usually needed to bring all the soluble protein into solution.

### Summary

In the course of establishing a routine for the determination of the *in vitro* digestible organic matter (DOM) of tropical grasses being agronomically screened, the effects of several variables were studied in 9 experiments.

DOM values were not affected by giving the donor sheep a protein supplement, or by drying samples at 65° or 105°C. It was found advisable to use rumen liquor from more than one donor, to standardise the time of its collection relative to the previous meal, to use a partial vacuum to wet samples at the start of stage 1, and to stop fermentation at the end without using mercuric chloride.

DOM values of a poor quality sample (1.5 per cent CP) were increased by milling the sample twice, and by including 6 mg of urea-N in the buffer solution added for stage 1 fermentation with rumen liquor. Prolonging stage 1 from 48 to 72 h increased the amount of OM digested in a range of samples, and the addition of urea increased the rate of digestion, the increase being greatest in the samples of poor quality. The asymptotic equation  $Y = A + Be^{-kx}$ , to describe the rate of digestion, is proposed.

Digestion in acid pepsin for 2.4 h increased the amount of OM digested, but continuation for a further 2.4 h had no effect with samples containing up to 22.6 per cent CP.

### Acknowledgments

Our thanks are due to B. Toolsie, A. Kennedy and Miss A. Hodge for technical assistance in the laboratory, to Mr. J. Fenlon of the Grassland Research Institute, Hurley, U.K. for help with the statistical analysis of data from Experiment 5, to Miss J. M. Dance, and Messrs J. Seepersad and G. O. Watson for assistance with the field work and analyses, and finally to the Department of Agriculture, Reading University for office and computing facilities for one of us (S.J.C.).

*Literature cited*

1. ALEXANDER, R. H. and MCGOWAN, MARY The routine determination of *in vitro* digestibility of organic matter in forages - an investigation of the problems associated with continuous large-scale operation. *Journal of the British Grassland Society* 21(2): 1-10-147. 1966.
2. ANNISON, E. F. and LEWIS, D. *Metabolism in the rumen*. London, Methuen, 1959. pp. 92-119.
3. BARNES, R. F. Collaborative *in vitro* rumen fermentation studies on forage substrates. *Journal of Animal Science* 26(5):1120-1130. 1967.
4. BRUNDAGE, A. L. Repeatability of a two-stage *in vitro* system of digestibility measurement. *Journal of the British Grassland Society* 27(2):111-111. 1967.
5. ELLIOTT, R. C. and TOPPS, J. H. Studies of protein requirements in ruminants. 3. Nitrogen balance trials on Blackhead Persian sheep given diets of different energy and protein content. *British Journal of Nutrition* 18:245-252. 1964.
6. ENGELS, E. A. N. and VAN der MERWE, F. J. Application of an *in vitro* technique to South African forages with special reference to the effects of certain factors on the results. *South African Journal of Agricultural Science* 10(4):983-996. 1967.
7. McLEOD, M. N. and MINSON, D. J. Sources of variation in the *in vitro* digestibility of tropical grasses. *Journal of the British Grassland Society* 24(3): 241-249. 1969.
8. MINSON, D. J. and McLEOD, M. N. Digestibility *in vitro*. Annual Report of the Division of Tropical Pastures, CSIRO, Australia. 1968-69. pp. 85-86.
9. MINSON, D. J. and McLEOD, M. N. The *in vitro* technique: its modification for estimating digestibility of large numbers of tropical pasture samples. Technical Paper N° 8 of the Division of Tropical Pastures, CSIRO, Australia. 1972.
10. RAYMOND, W. F. and TERRY, R. A. Studies of herbage digestibility by an *in vitro* method. *Outlook in Agriculture* 5(1):60-68. 1966.
11. TILLEY, J. M. A., DERIAZ, R. E. and TERRY, R. A. The *in vitro* measurement of herbage digestibility and assessment of nutritive value. Proceedings of the Eighth International Grassland Congress, Reading, U.K. 1960. pp. 533-537.
12. ——— and TERRY, R. A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society* 18(2):104-111. 1965.
13. ——— and TERRY, R. A. Procedure for the *in vitro* digestion of herbage samples. The Grassland Research Institute Report, 29th April, 1968. (Mimeo).
14. TROELSEN, J. E. and HENEL, DONNA J. Ruminant digestion *in vitro* as affected by inoculum donor, collection day and fermentation time. *Canadian Journal of Animal Science* 46(3):149-156. 1966.
15. WILKINS, R. J. The potential digestibility of cellulose in forage and faeces. *Journal of Agricultural Science*, 73(1):57-64. 1969.
16. ——— and MINSON, D. J. The effects of grinding, supplementation and incubation period on cellulose digestibility *in vitro* and its relationship with cellulose and organic matter digestibility *in vivo*. *Journal of Agricultural Science* 74(3):445-451. 1970.

# Observaciones fenológicas en el bosque húmedo de pre-montano de San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica\*—

LUIS A. FOURNIER O\*\*

## ABSTRACT

*This paper reports 18 months of phenological observations in the forest remnants of San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica. This place is located in an area of rich volcanic soils at 1200 m above sea level, with a mean annual rainfall of 2000 mm and a temperature of 20.5 C.*

*The four phenological characteristics studied (flowering, fruiting, leaf flushing and leaf fall) show a marked periodicity during the year. Flowering and fruiting tend to behave very similar with two peaks during the dry season and beginning of the wet season (January to May) and another in September - October, just after the "veranillos" (July - August, a period of less rainfall). Leaf fall exhibits also a high peak in the dry season, but it diminishes markedly when the wet season begins. Another noticeable period of leaf fall is observed during the period of "veranillos". On the other hand, leaf flushing shows its most active period during the wet season (May to November).*

*The available information permits to get some insights of how tropical forest behave phenologically, but more research is needed, specially on experimental phenology, before a better understanding of the factors and processes involved in the problem can be gained. It is also pointed out in this paper, the necessity of relating the information on phenology to that on reproductive biology in order to get an overall picture of the dynamics of tropical forest ecosystems — The author.*

## Introducción

**E**L conocimiento fenológico es de suma importancia en la comprensión de la compleja dinámica de los ecosistemas forestales. Este tipo de información no sólo permite explicar muchas de las reacciones de las plantas a su medio ambiente climático y edáfico (4, 9), sino que también es importante en el estudio de las relaciones entre las plantas y los animales de una comunidad biótica y sus vecinas (10)

En el campo del uso racional del medio ambiente, el conocimiento fenológico es fundamental en cualquier plan de ordenamiento del bosque, ya sea con miras al

mantenimiento de la vida silvestre o en la producción de madera o de otros recursos forestales

En la mayoría de los países de la región tropical, el conocimiento fenológico es aún escaso y fragmentario, a pesar que es en esta región donde la diversidad biológica permite una expresión más compleja en la fenología. Esta falta de información fenológica es en buena parte la responsable de muchos de los desastros que se han cometido en el uso de la tierra en los trópicos

El primer estudio de importancia realizado en Costa Rica en el campo fenológico es el de Fournier y Salas (9), en el que se analiza la periodicidad en el proceso de floración en una comunidad forestal de la región de Villa Colón, en el suroeste del Valle Central. Sin embargo, en los últimos 10 años, la investigación fenológica en el país ha recibido mayor atención y esto ha dado como resultado la publicación de un buen número de trabajos tanto en el campo metodológico (5, 6, 8) como en el de análisis de especies individuales (4) o de comunidades (3, 9, 11, 13).

\* Recibido para la publicación el 10 de noviembre de 1975

\*\* Sección de Ecología, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Costa Rica

Este trabajo es una contribución al conocimiento fenológico del bosque húmedo de premontano de la región de San Pedro de Montes de Oca en la región nor-oriental del país. Esta investigación además de su valor intrínseco, tiene especial importancia ya que los bosques de esta región han desaparecido prácticamente y sólo se encuentran remanentes de ellos a lo largo de los cursos de agua y en otras pequeñas áreas. Y aun muchos de estos pequeños bosquetes están condenados a desaparecer, como ya ocurrió con una buena parte de la muestra empleada en este estudio.

#### *Materiales y métodos*

Esta investigación se realizó en la Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, de la Universidad de Costa Rica en San Pedro de Montes de Oca, a una altura de 1.200 m sobre el nivel del mar. Esta región tiene una precipitación promedio anual de unos 2.000 mm y una temperatura de 20,5 grados centígrados. Los suelos de San Pedro de Montes de Oca son andosoles (andepts) de buenas condiciones físicas y químicas (17).

El estudio incluyó 42 especies forestales (ver Cuadro 1) principalmente árboles, que constituyen remanentes de los bosques nativos de la zona.

El tamaño de la muestra varió de 1 a 10 individuos, dependiendo de la disponibilidad de material, y éstos fueron seleccionados según su orden de aparición en un recorrido preliminar de muestreo. En total se observó una muestra de 116 individuos.

El estudio se inició en el mes de noviembre de 1973 y finalizó en julio de 1975. Durante el primer año se hicieron observaciones quincenales, pero en el tiempo restante del estudio, el intervalo se aumentó a un mes, según lo recomendado por Fournier y Charpentier (8). A cada uno de los árboles se le determinó sus características fenológicas (floración, fructificación, caída del follaje y brotación) según el método propuesto por Fournier (5).

#### *Resultados*

En el Cuadro 1 se presenta una lista de las especies de plantas leñosas utilizadas en este estudio así como un detalle de sus épocas de floración, fructificación, caída del follaje y brotación.

En los gráficos de las Figuras 1 y 3 se observa, respectivamente, la variación en cuanto a los procesos de floración y de fructificación en la magnitud de la expresión de fenómeno; así como el número de especies que lo exhiben. Por otra parte, en las Figuras 2 y 4 se muestra la variación de estas mismas medidas de la expresión fenológica con respecto a la brotación y a la caída del follaje.

La Figura 5 incluye un climograma de la ciudad de San José, con base en 10 años de observaciones (1). Esta es la estación meteorológica más cercana a la zona de estudio, de la cual dista unos dos kilómetros.

Al disminuir la precipitación en el mes de noviembre (Fig. 5) se inicia un período muy activo en la fenología de este bosque que se manifiesta en un aumento en las cuatro características estudiadas, fenómeno que se mantiene prácticamente durante toda la estación

seca. Sin embargo, al inicio de la estación lluviosa en mayo, la situación toma un giro diferente. El crecimiento vegetativo se incrementa y en junio, alrededor de un 50 por ciento de los componentes del bosque se encuentran en actividad. Pero este inicio de las lluvias tiene un efecto contrario en la caída de las hojas, que comienza con un brusco descenso, para alcanzar un mínimo cuando el crecimiento vegetativo está en su plenitud. Lo mismo sucede con la floración y la fructificación, aunque estas características alcanzan su nivel mínimo mucho más tarde en la estación lluviosa; ya que algunos árboles como *Acnistus arborescens*, florecen y fructifican durante la primera parte de esta estación. Después del período de los veranillos, que se manifiesta mayormente entre los meses de julio y agosto, se nota un nuevo período de actividad tanto en la caída del follaje, como en la floración y fructificación. Algunas especies como *Cyrtos gossypifolius*, aunque tienen una actividad fenológica durante todo el año, es en este período cuando presentan mayor floración y fructificación.

#### *Discusión*

El Cuadro 1 y las Figuras 2, 3 y 4 muestran que en el bosque húmedo de premontano de San Pedro de Montes de Oca las características fenológicas exhiben una visible periodicidad durante el año. Este comportamiento del bosque, con ligeras variantes debidas a variaciones climáticas, se manifiesta de un año a otro. La periodicidad de las características fenológicas de los árboles ha sido observada ya en otras comunidades forestales tropicales (2, 3, 9, 11, 13), así como en plantas herbáceas (2, 16).

La floración de los árboles de San Pedro de Montes de Oca es más acentuada durante los meses de febrero, marzo y mayo y de nuevo en los meses de agosto y setiembre; aunque con menor intensidad que en los primeros meses (Figura 1). Entre los meses de julio y agosto es cuando se registra la época de menor floración, tanto en la cantidad de flores como en el número de especies en flor. Al comparar estas observaciones con la información de otros estudios fenológicos, se puede apreciar lo siguiente. En la región de Villa Colón, también con un clima de tipo pacífico como el de San Pedro, pero a menor altitud (800 m), la floración de los árboles presenta dos picos en la época seca; pero ambos ocurren más o menos con un mes de anticipación que los de San Pedro (9). El mismo fenómeno fue observado por Fournier (4) con respecto a la floración de *Tabebuia rosea*. Esta especie florece primero en Villa Colón y luego en San Pedro, lo que probablemente se debe a ciertas diferencias en la distribución de las lluvias de estación seca en ambas localidades, así como a un desecamiento más rápido del suelo en Villa Colón. En otra región de clima tipo pacífico, Cañas, Guanacaste, a una altitud de 45 m sobre el nivel del mar, la floración es bastante acentuada en los meses de enero a abril; mientras que en el período comprendido entre julio-noviembre, ésta disminuye notablemente (3). Esta situación de mayor floración en los meses de enero a abril fue observada también por Frankie, Baker y Opler (11) en una región cercana a Cañas, pero además esos

Cuadro 1.—Períodos de floración, fructificación, caída del follaje y brotadura en los árboles de San Pedro de Montes de Oca.

Especie	Floración	Fructificación	Caída del follaje	Brotadura
<i>Acalypha leptopoda</i> M. Arg	Todo año	Todo año	dic.embre-mayo	Todo año
<i>Acnistus arborescens</i> Schlecht	mayo-noviembre	junio-noviembre	febrero-abril	mayo-diciembre
<i>Calliandra tetragona</i> (Willd) Benth	setiembre-junio	enero-julio	abril-agosto	mayo-diciembre
<i>Citharexylum caudatum</i> L	octubre-enero	diciembre-junio	mayo-junio agosto-setiembre	octubre-enero
<i>Cordia glabra</i> L	octubre-abril	diciembre-junio	junio-enero	octubre-febrero
<i>Cestrum lanatum</i> Mart & Gal	enero-marzo	marzo-abril	abril	todo año
<i>Cestrum baenitzii</i> Lingelsh	enero-marzo	marzo-mayo	—	dic.embre-enero abril-setiembre
<i>Cupania glabra</i> Swartz	enero-mayo agosto-setiembre	todo año	enero febrero	todo año
<i>Conostegia xalapensis</i> (Bonpl) Donn Sm	abril-agosto	mayo-agosto	febrero abril	enero-abril julio-diciembre
<i>Cecropia obtusifolia</i> Bertol	setiembre-abril	diciembre-julio	noviembre-diciembre	febrero diciembre
<i>Croton gossypifolius</i> Vahl	todo año	todo año	todo año	todo año
<i>Cedrela odorata</i> L.	mayo-julio	todo año	setiembre-marzo	abril-agosto
<i>Cassia fruticosa</i> Mill.	marzo-junio	mayo-octubre	enero-marzo	marzo-junio
<i>Erythrina poeppigiana</i> (Walp) D F. Cook	diciembre-mayo	enero-mayo	todo año	enero-junio
<i>Ficus costaricana</i> (Liebm) Miqu.	diciembre-abril	todo año	todo año	diciembre-febrero abril-setiembre
<i>Ficus jimenezii</i> Standl	abril-julio octubre-noviembre	julio-setiembre diciembre-enero	setiembre-marzo	abril-agosto
<i>Ficus hemesleyana</i> Standl	noviembre-abril	todo año	mayo-marzo	noviembre-setiembre
<i>Ficus pertusa</i> L.	agosto-setiembre	octubre-diciembre	noviembre-febrero	febrero-julio
<i>Hamelia patens</i> Jacq	todo año	todo año	febrero-abril	marzo-mayo agosto diciembre
<i>Inga vera</i> subesp. <i>spuria</i> (Willd) L J León	enero-octubre	febrero-octubre	variable	todo año
<i>Lippia torresii</i> Standl.	febrero-marzo	marzo-mayo	enero-junio setiembre-octubre	junio-octubre
<i>Licaria limboza</i> (R&P) Korter	mayo-junio	todo año	variable	mayo-julio
<i>Montanoa hibiscifolia</i> Benth	diciembre-febrero	enero-junio	marzo-abril	mayo-diciembre
<i>Mauria birringo</i> Tulasne	todo año	todo año	noviembre-diciembre	agosto-setiembre octubre-abril
<i>Oreopanax xalapensis</i> (HBK) Dene & Planch	setiembre febrero	diciembre-mayo	variable	junio-julio noviembre-diciembre
<i>Ochroma pyramidale</i> (Cav. ex. Lam) Urban	agosto-febrero	octubre-mayo	diciembre-junio	todo año
<i>Piper aduncum</i> L.	todo año	todo año	abril-mayo	marzo-diciembre
<i>Piper</i>	todo año	todo año	—	marzo-diciembre
<i>Phoebe mexicana</i> Meissn	enero-marzo	mayo-agosto	diciembre	agosto-noviembre diciembre-febrero
<i>Pouteria mammosa</i> Cook	junio-octubre	octubre-abril	diciembre	enero-mayo
<i>Psychotria carthagenensis</i> Jacq.	todo año	todo año	—	variable
<i>Picramnia quaternaria</i> Donn. Sm.	todo año	todo año	—	variable

Cuadro 1.—(Continuación)

Especie	Floración	Fructificación	Caída del follaje	Brotadura
<i>Persea caerulea</i> (R&P) Mez	febrero-julio	marzo-noviembre	enero-abril varios	febrero-junio
<i>Sapium jamaicense</i> Swartz	abril agosto	junio-diciembre	noviembre-abril	abril-setiembre
<i>Spondias purpurea</i> L.	febrero-abril	abril-agosto	agosto-abril	marzo-agosto
<i>Stemmadenia glabra</i> Benth	diciembre-julio	todo año	enero-abril	variable
<i>Solanum umbellatum</i> Mill	diciembre-abril agosto-octubre	agosto-noviembre- mayo	enero marzo	febrero-octubre otros
<i>Turpinia paniculata</i> Vent.	mayo-junio	junio-abril	febrero-abril	mayo
<i>Tabebuia rosea</i> (Bertol) DC.	marzo-junio	mayo-junio	febrero-junio	mayo-julio agosto-diciembre
<i>Trema micrantha</i> (L) Blume	todo año	todo año	—	todo año
<i>Vernonia patens</i> HBK	febrero-abril	abril-junio	abril	junio-noviembre
<i>Verbesina oerstediana</i> Benth	julio-diciembre	diciembre junio	marzo-abril	abril-diciembre

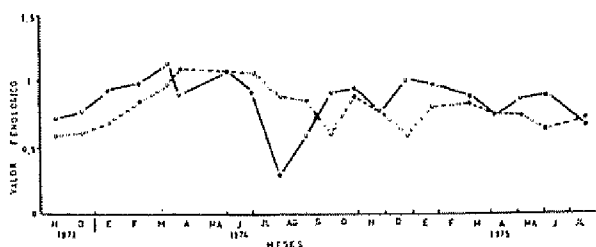


Fig. 1.—Valores de floración (línea continua) y de fructificación (línea interrumpida) en el bosque de premontano húmedo de San Pedro de Montes de Oca.

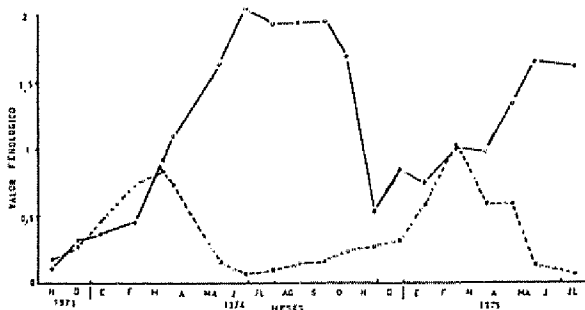


Fig. 2.—Valores de brotadura (línea continua) y de caída del follaje (línea interrumpida) en el bosque de premontano húmedo de San Pedro de Montes de Oca.

autores anotan la presencia de un segundo pico de floración en el mes de mayo y otro más pequeño en agosto-setiembre. Janzen (13) muestra también una curva de floración cuyo clímax se localiza entre los meses de febrero y marzo para el Pacífico Sur de Costa Rica, una zona mucho más húmeda y con una estación seca menos rigurosa que las localidades consideradas anteriormente. También para la zona Atlántica de Costa Rica se ha observado periodicidad en la floración (11).

Los estudios analizados anteriormente muestran, que en general, la mayor actividad de floración ocurre entre los meses de enero a mayo o sea cuando la precipitación es menor, así como poco tiempo después del período de los veranillos. Janzen (13) ha propuesto la hipótesis de que muchos de los árboles de las regiones bajas de la América Central han desarrollado la capacidad de florecer y fructificar en la estación seca, como un medio para poder competir durante el período de crecimiento vegetativo y, utilizar mejor los agentes de polinización y dispersión. Esta alternancia entre la fase reproductiva y la vegetativa permitiría, según ese autor, utilizar mejor la energía para el crecimiento vegetativo durante la estación lluviosa. Esta hipótesis parece ser valedera, en términos generales, para el caso de San Pedro de Montes de Oca, pero como se observa en el Cuadro 1, no se cumple para todas las especies. Algunos de los árboles caducifolios de este bosque, como *Cordia glabra*, y *Turpinia paniculata*, producen su follaje en la época seca y en igual forma florecen y fructifican en ese período. Durante la época de mayor precipitación estas especies no producen nuevo follaje, pero es probable que exhiban una alta tasa fotosintética que les permite acumular energía para los gastos de brotadura, floración y fructificación de la estación seca.

La actividad de fructificación en el bosque de San Pedro de Montes de Oca está, como es de esperar, muy correlacionada con la floración (Fig. 1 y 3). Se observa



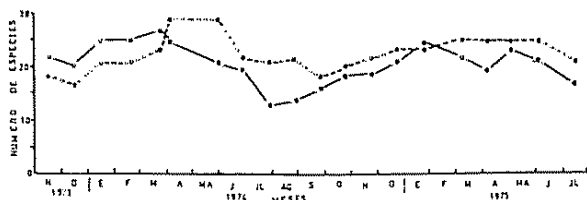


Fig. 3.—Curvas de floración (línea continua) y de fructificación (línea interrumpida) en el bosque húmedo de premontano de San Pedro de Montes de Oca

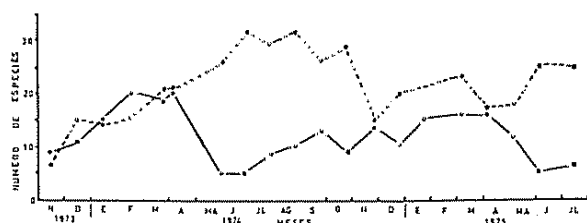


Fig. 4.—Curvas de caída del follaje (línea continua) y de brotación (línea interrumpida) en el bosque húmedo de premontano de San Pedro de Montes de Oca

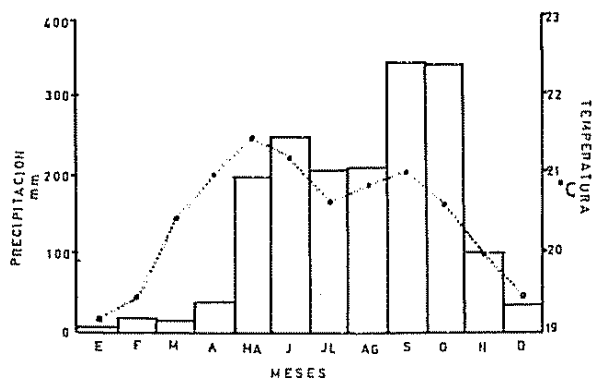


Fig. 5.—Clima de la región de San José, Costa Rica, según información del Servicio Meteorológico Nacional (1)

un pico de marzo a junio, que corresponde a los dos picos de floración (febrero-marzo y mayo) y otro en octubre posterior a la floración de setiembre-octubre. Sin embargo, la curva de fructificación muestra menos fluctuaciones que la de floración, lo que asegura una mayor cantidad de frutos en el bosque todo el año. Esta mayor uniformidad de la curva de fructificación se debe en parte a que en un buen número de árboles, el período de fructificación es mucho más largo que el de floración. La correlación entre los picos de floración y fructificación ha sido observado también por otros autores.

Esta correlación es más evidente cuando la manifestación de la característica fenológica se evalúa no por el número de especies que muestran el fenómeno, como lo hacen la mayoría de los autores, sino mediante una apreciación del porcentaje de actividad, tal como lo ha sugerido Fournier (5).

En las Figuras 2 y 4 se puede apreciar que los fenómenos de caída del follaje y de brotación son opuestos y que cuando hay mayor actividad de crecimiento vegetativo como sucede durante la estación lluviosa, (mayo-octubre) la caída de follaje es mínima. Entre los meses de noviembre a mayo se presenta un incremento tanto en la brotación como en la caída del follaje. Esta situación, que contrasta con lo que ocurre durante la estación lluviosa, se debe en buena parte a que las especies caducifolias al perder su follaje muestran casi en forma simultánea un intenso período de crecimiento vegetativo. Estas observaciones coinciden con los resultados del estudio de Frankie, Baker y Opler (11) para Bagaces, Guanacaste y Puerto Viejo de Sarapiquí, excepto en lo que corresponde a la brotación, en el último sitio. En Puerto Viejo se presenta un pico bien marcado de crecimiento vegetativo entre febrero y marzo y otro entre setiembre y octubre, que casualmente corresponden al tiempo de menor precipitación en la zona.

Daubenmire (3) muestra para Cañas, Guanacaste valores de caída de follaje muy parecido a los de San Pedro de Montes de Oca. También coincide esta información con el estudio de acumulación de mantillo realizado por Fournier y Camacho (7) en el mismo bosque de San Pedro de Montes de Oca.

Las cuatro características fenológicas analizadas en este estudio muestran un incremento en el inicio de la estación seca; sin embargo, es probable que los mecanismos que causan este efecto sincronizado sean de índole diferente. Daubenmire (3) ha sugerido que la variación en la longitud del día, que es de poco más de una hora para esta latitud, puede ser un estímulo para la brotación. Por otra parte, Fournier (4) observó que en poblaciones de *Tabebuia rosea* localizadas a lo largo de un gradiente altitudinal (800 a 1200 m) la brotación se inicia en el sitio de menor altura 5 semanas antes que en el de 1200 m y lo mismo sucede con el inicio de los fenómenos de floración y caída del follaje.

La caída del follaje en los árboles de San Pedro de Montes de Oca muestra una relación bastante acentuada con la disminución de precipitación; en la estación seca y en el período de "veranillos" es cuando caen más hojas. Esta es una forma de disminuir el área de transpiración en épocas de sequías. Aún en Puerto Viejo de Sarapiquí, en un clima de tipo Atlántico, en donde la estación seca no es muy acentuada, la caída del follaje es mayor durante los períodos de menor precipitación (11).

El estado actual del conocimiento fenológico en los trópicos, aunque permite establecer ya algunas generalizaciones, como la periodicidad en la manifestación de los fenómenos y su relación con factores climáticos, deja aun planteadas diversas interrogantes en cuanto a los mecanismos que estimulan estos factores o elementos del ambiente. Para poder responder a algunas de estas interrogantes, se hace necesario no solo estudiar

más a fondo los bosques de la región del Atlántico y los de los sitios en alturas arriba de 1500 m, sino que también precisa dedicar mayor esfuerzo en el campo de la fenología experimental. Por otra parte, los estudios de Heithasu (12), Salas (14, 15) y Stiles (16), muestran la necesidad de relacionar las manifestaciones fenológicas de los árboles con sus agentes de polinización y de dispersión, como una manera de comprender mejor las complejas comunidades forestales de los trópicos.

*Literatura citada*

1. COSTA RICA, Anuario Meteorológico. Servicio Meteorológico Nacional, Ministerio de Agricultura y Ganadería, San José, Costa Rica 1966. 61 p.
2. CROAT, T. B. Seasonal flowering behavior in Central Panamá: *Annals Missouri Botanical Garden* 56(3): 295-307 1969
3. DAUBENMIRE, R. Phenology and other characteristics of tropical semideciduous forests in North-Western Costa Rica. *Journal of Ecology* 60:147-170 1972.
4. FOURNIER, L. A. Estudio preliminar sobre la floración en el roble de sabana, *Tabebuia pentaphylla* (L.) Hemsl. *Revista de Biología Tropical* 15(2):259-267 1969
5. ————. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. *Turrialba* 24(4):422-423 1974
6. ————. El dendrofenograma, una representación gráfica del comportamiento fenológico de los árboles. *Turrialba* 26(1):96-97 1976
7. ———— y CAMACHO DE CASTRO, LUCIA. Producción y descomposición del mantillo en un bosque secundario húmedo de premontano. *Revista de Biología Tropical* 21(1):59-67 1973.
8. FOURNIER, L. A. y CHARPANTIER, CLAUDIA. El tamaño de la muestra y la frecuencia de las observaciones en el estudio de las características fenológicas de los árboles tropicales. *Turrialba* 25(1):45-48 1975
9. ———— y SALAS, S. Algunas observaciones sobre la dinámica de la floración en el bosque tropical húmedo de Villa Colón. *Revista de Biología Tropical* 14(1):75-85 1966
10. FRANKIE, G. W., BAKER, H. G. y OPLER, P. A. Tropical plant phenology: applications for studies in community ecology. In: Lieth, H. ed. *Phenology and seasonality modeling*. Berlin, Springer Verlag, 1974 pp. 287-296.
11. ————. Comparative phenological studies of trees in tropical wet and dry forests in the lowlands of Costa Rica. *Journal of Ecology* 62:881-919 1974
12. HEITHASU, E. R. The role of plant pollination interaction in determining community structure. *Annals Missouri Botanical Garden* 61(6):675-691 1974.
13. JANZEN, D. H. Synchronization of sexual reproduction of trees within the dry season in Central America. *Evolution* 21(3):620-637 1967.
14. SALAS, S. Una bromeliácea costarricense polinizada por murciélagos. *Brenesia* N° 2: 5-10 1973
15. ————. Análisis del sistema de polinización de *Inga vera* subespecie *spuria*. Tesis, Licenciatura en Biología, San Pedro de Montes de Oca, Universidad de Costa Rica. 1974 97 p.
16. STILES, F. G. Ecology, flowering phenology and hummingbird pollination of some Costa Rican *Heliconia* species. *Ecology* 56(2):285-301 1975
17. VARGAS, O. y TORRES, J. A. Estudio preliminar de suelos de la región occidental de la Meseta Central. Ministerio de Agricultura e Industrias, Costa Rica, Boletín Técnico N° 22 1958 64 p.

# Formula for calculating from weather data the residual soil moisture during soil drying\* ————— WARREN M. FORSYTHE\*\*

## COMPENDIO

*Se consideró la base experimental para el modelo del agotamiento de la humedad del suelo, el cual tiene una etapa de  $E$  constante de evapotranspiración combinada con una de  $E/PET$  en disminución y además durante la segunda etapa hay la presuposición de que la razón de la evapotranspiración a la evapotranspiración potencial disminuye linealmente con la humedad extraíble decreciente del suelo. Una fórmula para la humedad residual del suelo basada en dicha presuposición se derivó y concuerda bien con los valores en las tablas de Thornthwaite y Mather. Se demostró su uso especialmente en condiciones tropicales. La fórmula tiene la ventaja de ser flexible ya que se puede aplicar a suelos con cualquier valor de agua extraíble total, se puede evaluar rápidamente con una calculadora electrónica de escritorio con una función de potencia, y se puede usar fácilmente en programas para computadoras — El autor.*

### Introduction

THE estimation of soil moisture content from certain climatic and soil data is becoming increasingly important for evaluating soil water resources for forest and crop zoning (5, 11, 55, 58, 73), determining crop irrigation needs for a given soil type in an area (36, 54, 62), estimating the drainage load of an area (35, 63), run-off water yields (30) and determining the trafficability of the soil at any given time of the year (63). Naturally a direct determination of soil moisture is the best method of obtaining this information. The dynamic nature of soil moisture requires daily, weekly or monthly averages for useful interpretation which at the same time makes it difficult to obtain extensive information of this type.

Information on the probability of occurrence of certain values of soil moisture is necessary to evaluate soil water resources in a meaningful and practical manner, such as the risk of water deficit (11, 63), the probability of irrigation needs (5, 12, 15) or the chances of excess water during a given time of the year (4). From a statistical viewpoint this means having soil moisture

information for approximately 20 years. However, very little direct soil moisture information exists, and when it does it is confined to the soil of a given weather station. With this background the value of estimating soil moisture content from climatic and easily obtainable soil data (the moisture holding capacity of the root zone) is appreciated.

Since the soil dries between rains or irrigation applications, a method of evaluating evapotranspiration for drying soil is important. Thornthwaite and Mather's method (62, 63) for predicting residual soil moisture from the atmospheric water balance (potential evapotranspiration - precipitation) has obtained reasonable agreement with field data. Methods using their assumptions in computer programs have also been quite successful (41, 72). The method requires the use of the authors' tables (64) which are available for certain total soil moisture holding capacities between 25 and 400 mm, since no formula was shown and presumably the tables were estimated by computer approximation. However, in reality, the effective root zone of a soil can have any value of total moisture holding capacity and a method adapted to any value will be of much practical use. For example, there are soils derived from volcanic ash (Hydric Dystrandepts) which have total moisture holding capacities up to 700 mm for 1.0 meter depth of soil (23). Thus, deriving a formula for residual soil moisture from Thornthwaite and Mather's assumption (63) that relates evapotranspiration rate to total

\* Received for publication September 11, 1975.

\*\* Soil Physicist, CATIE, Turrialba, Costa Rica.

soil moisture content will solve the problem. The objective of this paper is to derive such a formula and show its use, especially in tropical areas

#### *Water balance*

Thornthwaite (60, 63) introduced the water balance method for calculating soil moisture using a book-keeping method which may be summarized in the following manner:

$$W_2 = W_1 + R - E \quad [1]$$

$W_1$  = Initial soil water content (expressed as height)

$W_2$  = Final soil water content

R = Infiltrated rain

E = Evapotranspiration

The soil has a moisture storage limit (field capacity) and when  $W_2$  exceeds this value a condition of surplus exists and drainage begins. When E is greater than R (negative atmospheric water balance) stored soil moisture is utilized by the crop thereby creating a soil deficit. New rainfall or irrigation initiates the recharging of the soil moisture.

Thornthwaite (60) originally assumed that all soils had an available water holding capacity (field capacity-wilting point) of 100 mm and that the evapotranspiration rate of a crop was the same from field capacity to wilting point and became zero at wilting point. The latter idea is similar to that of Veihmeyer and Hendrickson (68) with results obtained from fruit trees in California with deep rooting and in areas of apparently low evaporative demand. Richards and Wadleigh (49) discussed Veihmeyer and Hendrickson's experiments and pointed out the difference between equal availability as measured by constant evapotranspiration rates between field capacity and wilting point and equal availability as defined as constant yields between these two moisture points. Veihmeyer and Hendrickson obtained constant evapotranspiration rates, but in many of their experiments fruit yield was reduced by soil water deficits, and this result agrees with those of other researchers, who have demonstrated that soil water deficits affect the yield and growth of a variety of crops and trees.

Halstead (61) by using an energy balance method, showed that at 10 cm depth, 100 per cent of net radiation was used in evaporation when the soil was at field capacity and 0 per cent when the soil was at 1 per cent soil moisture, which was considered to be the wilting point. Similar data was presented by Thornthwaite and Mather (62), and Ritchie, Burnett and Henderson (50) obtained similar results with cotton and grain sorghum; however the 100 per cent rate started to decrease at a threshold soil moisture level.

Subsequently Thornthwaite and Mather (62, 63) have considered the total soil moisture content at field capacity as a starting point in soil depletion studies, and used the principle that when the soil is at field capacity

potential evapotranspiration occurs, and as the soil dries the rate of evapotranspiration is proportional to the total amount of water remaining in the soil.

Instead of a standard value of available water holding capacity used in the earlier method of 100 mm, a new standard value of total water holding capacity of 300 mm was used to prepare a soil moisture depletion table (63). Realizing the limitation of one standard value of total moisture holding capacity to be applied to all soils, Thornthwaite and Mather (64) prepared tables for soils with certain total moisture holding capacities ranging from 25 to 400 mm.

#### *Potential evapotranspiration*

Thornthwaite (60) developed the concept of potential evapotranspiration (PET) to avoid the problem of the variability of evapotranspiration (E) observed with different soil moisture contents. It represents the maximum value of evapotranspiration rate of a crop cover when soil water is not limiting, that is, at field capacity. The potential evapotranspiration rate thus becomes a function of the evaporating power of the prevailing climate and is independent of soil-plant factors. Penman (45) made a similar definition of potential evapotranspiration considering the case of the soil surface being completely covered by the crop. It should be pointed out that the soil with non-limiting water conditions should also have non-saline conditions. During conditions of potential evapotranspiration, a model has been developed which considers plant cover as a passive evaporation surface or a wet wick (67). Many crops with well developed canopies that cover the soil have similar potential evapotranspiration rates. This phenomenon can be explained by an energy balance analysis. Plant cover reflects a certain percentage (albedo) of incoming solar and sky radiation. The unreflected radiation (net radiation) energy is utilized in evapotranspiration and the heating of the crop, the air and the soil. Under potential evapotranspiration conditions almost all the net radiation energy is used in evapotranspiration (61, 62, 63). A low Bowen ratio\* (0.1) reported by Gates and Hanks (27) for well watered crops and data from Ritchie, Burnett and Henderson (50) also support this idea. Thus, if different crops have similar values of albedo they should have similar potential evapotranspiration rates, since most of the absorbed radiant energy is used in evapotranspiration.

Thornthwaite (61) found that most of the common vegetables have albedos similar to grass, that is approximately 26 per cent; Davies and Buttior (13) obtained similar results. They found a value of 25 per cent for grass, corn, tomatoes, wheat, peppers, tomatoes, tobacco and cucumbers. Data from Angstrom (12) show variations from 14 per cent for a pine forest to 26 per cent for grass. Moist sand had 9 per cent. Gates and Hanks (27) review data ranging from 14 per cent - 29 per cent for crops and observe that the natural variation in plant color appears to have relatively little influence on

\* The ratio between sensible heat and latent heat (used in evaporation)

reflection Ramdas (48) on the other hand obtained data showing that color effects in soil are great. Baumgartner (6) estimated the albedos of forests to be about 8 per cent - 10 per cent, Stanhill (56) estimates a value of 15 per cent - 20 per cent for a pine forest and Pereira and McCulloch (16) estimated a value of 12 per cent for a bamboo forest, 18 per cent for broad-leaved tropical rain forests and 21 per cent for short green grass, all well watered. These data indicate that the albedo range for forest trees seems to be somewhat lower but with many values similar to agricultural crops.

The similarity of albedos between crops explains the conclusion of Angus (3) who observed that under similar climatic conditions different crops with well developed canopies showed similar evapotranspiration. The height of crops hardly influences their evapotranspiration capacity; it is the area of soil shaded which is important (7, 69). This is explained by data that show that most of the radiant energy is absorbed in the upper layer of the plant and thus the greater part of transpiration occurs there (38). In view of these results the earlier concept of transpiration ratio, which links total plant water consumption to dry matter production is not considered valid. DeWit (16) in a review of worldwide data has pointed out that many crops between latitudes 55 N and 55 S have sufficient solar radiation to satisfy their photosynthetic saturation point, and under this condition of excess radiation, there is no relationship between carbon assimilation and water use. This is especially so for crops between latitudes 40 N and 40 S. Taylor (59) arrived at a similar conclusion.

There are several methods of estimating PET: the heat balance and vapor movement methods using several measurements of climatic data, correlation with climatic data, and correlation with the evaporation from a free water surface. The relationship PET/Evaporation from a free water surface, has been called  $f$  by Penman (45). Good correlation has been experimentally obtained between PET and pan evaporation (8, 47) and as a result the relationship PET/Pan Evaporation, is considered a good estimate of  $f$ . The U.S. Weather Bureau class A pan has been widely used for this purpose. The evaporation pan method is more fully discussed here because there is a growing quantity of experimental data of  $f$  values for different crops. In areas where pan evaporation data do not exist, weather data can be used in its estimation.

Data of García and López (24), Legarda and Forsythe (37) and Hasan and Jones (32) suggest that for a given locale inside the tropical belt between 15°N and 15°S variations in relative humidity have a primary role in evaporation changes and formulas that use this factor have considerable success. On the other hand formulas that depend only on temperature and day-length such as that of Thornthwaite have little success in his belt due to the relatively small seasonal change during the year.

Once pan evaporation is measured or estimated for an area, the product of this value and  $f$  for a particular crop will give the potential evapotranspiration of this crop. The majority of crops studied have values which vary from 0.8 to 1.1 for maximum canopy development

(10, 18). The relatively small variation on a world-wide basis can be explained by the previously discussed similarity of albedo between agricultural crops. Douglass (17) concluded that when there are non-limiting soil water conditions, a dense grass cover and a complete forest cover have the same potential evapotranspiration. A bare soil at field capacity is in its first stage of evaporation, the constant rate stage, because evaporation depends only on climatic conditions (42). Actually, the evaporation rate will be constant only if the daily climatic conditions are constant, so we can adjust the constant rate concept for the more realistic daily climatic variations, and call it the constant  $f$  stage. In Hawaii, Campbell, Chang and Cox (9) found  $f$  to be 0.4 for bare soil, whereas Hargreaves (31) found a value of 0.42. The data of Campbell, Chang and Cox (9) show how the value of  $f$  for sugar cane increases to a maximum as the canopy develops. In a similar way the data of Hargreaves show the increase of  $f$  for cotton as it develops. The following are some values of  $f$  for fully developed canopies: beans 1.0, corn 0.85 (34), beans 1.07 - 1.19, corn 0.98 - 1.39, flood rice 1.04 - 1.14, peanuts 1.02 - 1.23, bananas 0.89 - 0.92, *Canavalia ensiformis* 1.10, *Crotalaria usaramoensis* 1.16 (18).

There are some notable exceptions to the general range of  $f$  values. Ekern (21) found that 12 month-old pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr., with a well developed canopy has an  $f$  value of 0.2, because its stomata are closed during the day and gaseous interchange occurs with soil air through channels in the roots and stems. This mechanism possibly exists in *Opuntia* and other succulent plants (cacti). Ferri (22) mentions species found in the "caatingas" of Brazil that only open their stomata in the early mornings even during the rainy season. For orange trees Hilgeman and Rodney (33) obtained  $f$  values of 0.45 to 0.58 and Van Bavel, Newman and Hilgeman (66) suggested that orange trees have high stomatal resistance even when the plant is well supplied with water. Van Bavel (67) suggested that some forest trees behave likewise. Many xerophytes may have similar mechanisms.

#### *Atmospheric water balance*

In order to establish the evaporating power of a particular climate without reference to soil moisture conditions, the PET must be used in relation to precipitation (P). The expression (P-PET) called here the atmospheric water balance serves this purpose and was used by Thornthwaite and Mather (62, 63). When the atmospheric water balance is negative then the soil will begin to dry out, and the more negative it is the greater will be the climatic capacity for drying the soil.

#### *Models of moisture depletion*

Studies on soil drying have isolated the constant rate stage which depends only on the evaporative demand of the climate and the falling rate stage which follows and depends strongly on soil factors including soil moisture (42, 45). As explained earlier for climates of variable evaporative demands, these stages may be considered as

those of constant  $f$  and falling  $f$ . The constant  $f$  stage continues to a certain threshold soil moisture value and then the "falling  $f$ " stage begins, which shall be referred to here as the decreasing E/PET stage, since  $f$  refers only to potential evapotranspiration conditions. For a given soil the value of the threshold soil moisture depends on the evaporation rate. Activation energy studies of Wiegand and Taylor (71) suggest that the constant  $f$  stage is mainly evaporation with some unsaturated flow, while the end of the decreasing E/PET stage is mainly water vapor diffusion in the soil. Two similar drying stages have been observed in the drying of leaves (65) and as a result it is difficult to say whether the soil or plant leaves dominate in the much observed evaporation behavior with constant  $f$  and decreasing E/PET stages. Similar drying curves have also been observed with shelled corn (29).

A common model for evapotranspiration is to consider the driving force of the water as the potential drop between the soil water in the root zone and the water vapor at the leaf border. Resistance to water flow is offered by the soil in the root zone, the stem, branches and leaves. Apparently greatest resistance is met in the soil of the root zone and the leaves (26, 38).

Figure 1 can be used to describe two extremes of experimentally observed moisture depletion curves. Curve 1-4-5 shows the experience of Veihmeyer and Hendrickson (68) with fruit trees where  $f$  remains constant until the soil dries to the lower limit of extractable water. On the other hand curve 1-5 approximates data obtained by Deanmead and Shaw (14) for corn with soil equivalent to 10 cm root depth and PET of 6.4 mm/day (52) and data of Thornthwaite (61) for a 10 cm soil depth. An intermediate curve such as 1-2-5 was obtained by Deanmead and Shaw (14) for corn at an equivalent 10 cm root depth but for lower rates of PET of 4.1 - 5.6 mm/day. Studies suggest that if PET is 1.3 - 2 mm/day or less a curve tending to the 1-4-5 type is obtained irrespective of soil depth (40, 43). The average of the experimental and semi-empirical values of PET not affected by soil depth or moisture is 2.2 mm/day, and this is used in the present model (25, 28, 40, 43, 53, 70).

The term extractable water is defined by Ritchie (52) as the quantity of soil water in the entire profile in excess of the minimum quantity observed in the soil when plant evapotranspiration practically stops because of dry soil. The term is useful because the 15 bar moisture value may or may not be this lower limit. Data of Deanmead and Shaw (14) suggest that for values of PET greater than 5.6 mm/day, this may be so but for lower values of PET the soil tends to dry beyond the 15 bar percentage. In Thornthwaite's data (61) the sandy soil dried to 1 per cent (wet weight basis), and Thornthwaite and Mather (63) used 0 per cent as the lower limit. The lower limit of extractable water will have to be defined for each case treated.

Tanner (57) has reviewed models of E/PET versus extractable water which considers each of the different cases shown in Fig. 1 as valid in addition to some curvilinear paths. Zahner (72) has a model which combines curves 1-4-5 and 1-5 according to soil texture. A moisture minimum measured in the field was used as the

lower limit of extractable water. The residual soil moisture was calculated by an IBM 7090 computer and fair agreement with field data was obtained. McCown (41) used a model similar to curve 1-2-5 where zone 2 beings at 50 per cent extractable water. Residual water was determined by computer simulation. Good agreement with field data was obtained. Ritchie and Jordan (51) have proposed an exponential function for E/PET versus extractable water for the decreasing E/PET zone. However, information on the time necessary to arrive at the lower limit of extractable water is needed, thus limiting the predictive nature of the equation. Eagleman (19) has suggested a cubic model which takes into account the influence of different values of PET and soil depth on the type of depletion curve. The 15 bar moisture is used as the lower limit of extractable water. Its complexity requires that residual soil moisture be calculated by a computer. Satisfactory agreement was obtained with field data. Linacre (39) has suggested a simpler form of Eagleman's equation (20).

*Formula for residual soil moisture*

The experimental data discussed suggest that the types of depletion curves shown in Figure 1 are reasonable working approximations. A guide is needed to choose the value of the fraction of extractable water,  $C$ , that initiates the decreasing E/PET phase. The experimental evidence suggests that the value of  $C$  depends on the soil depth used by the plant and the value of PET. It is convenient to consider  $C_d$  which depends on soil depth and  $C_e$  which depends on evapotranspiration rate. Then

$$C = C_d C_e \tag{2}$$

with the restrictions of  $0 < C_d < 1$  and  $0 < C_e < 1$ . Figure 2 shows the value of  $C_d$  versus soil depth for values of PET between 6 - 6.4 mm/day, which values will make  $C_d$  approximate unity when depth approximates 0. On the other hand Figure 3 shows the value of  $C_e$  versus PET, when the soil is shallow, that is, less

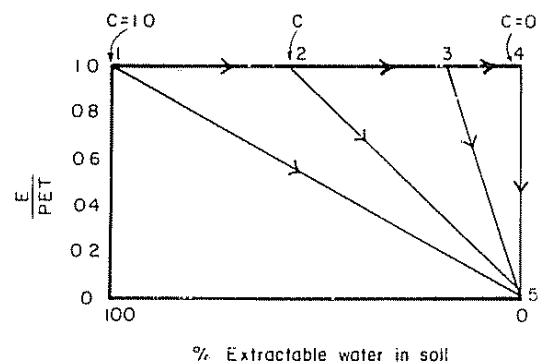


Fig. 1.—Model for moisture depletion

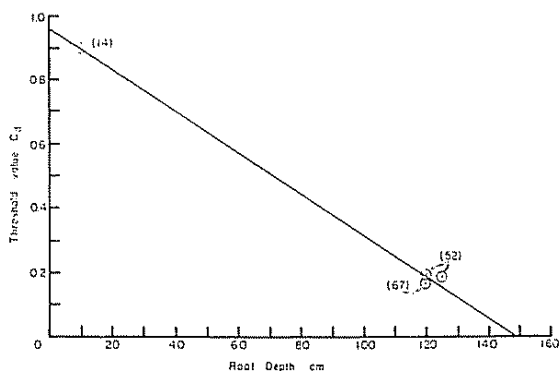


Fig. 2.—Threshold value ( $C_d$ ) of extractable water as influenced by rooting depth. For potential evapotranspiration greater than 6 mm/day

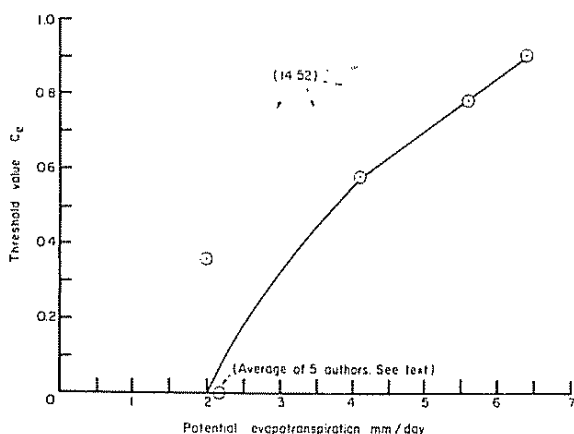


Fig. 3.—Threshold value ( $C_e$ ) of extractable water as influenced by potential evapotranspiration when soil is less than 10 cm deep.

than 10 cm depth. A knowledge of the soil depth occupied by the majority of plant roots and the PET, together with the use of equation [2] will give the desired value of  $C$ .

The value of residual moisture may be calculated in two steps. For the constant  $f$  phase the residual moisture can be calculated from a modified form of equation [1].

$$W_2 = W_1 + \text{atmospheric water balance} \quad [3]$$

For the decreasing  $E/PET$  phase, the considerably successful linear function will be used, i.e.  $E/PET$  is directly proportional to the per cent of extractable water in the profile. Let  $W$  be the water in the soil profile expressed as height and  $K$  be the total capacity of the profile to retain extractable water. Let  $A$  be the magni-

tude of the daily negative atmospheric water balance and  $t$  be time in days. For soil drying we may write:

$$\frac{dW}{dt} = - \frac{W}{K} \times A \quad [4]$$

$$dt = - \frac{dW}{W} \times \frac{K}{A} \quad [5]$$

Integrating we get:

$$t \left[ \begin{matrix} t_2 \\ t_1 \end{matrix} \right] = \ln W \times \frac{K}{A} \left[ \begin{matrix} W_2 \\ W_1 \end{matrix} \right] \quad [6]$$

$$t_2 - t_1 = - 2.3 \frac{K}{A} (\log W_2 - \log W_1) \quad [7]$$

If  $t_1 = 0$  and  $W_1 = K$ , then

$$\log \frac{W_2}{K} = - \frac{t_2 A}{2.3K} \quad [8]$$

$$\frac{W_2}{K} = 10^{- \frac{t_2 A}{2.3K}}$$

$$W_2 = K \times 10^{- \frac{t_2 A}{2.3K}} \quad [9]$$

Equation [9] is the residual moisture when the soil begins to dry at full capacity. The expression  $t_2 A$  is the total atmospheric water balance for the time lapse  $t_2$  days. If the soil begins to dry out at  $W_1$  then a more general form of equation [9] will be:

$$W_2 = W_1 \times 10^{- \frac{t_2 A}{2.3K}} \quad [10]$$

Comparison between equation [9] and Thornthwaite and Mather's tables

Thornthwaite and Mather (64) consider extractable water as total soil moisture. Their value of "PE" is equivalent to  $t_2 A$  in equation [9]. Table 1 shows excellent agreement between the residual moisture calculated by the formula and values from Thornthwaite and Mather's tables for  $K = 300$  mm. Similar agreement was obtained for other values of  $K$ . This case is one in which the falling  $E/PET$  phase begins at field capacity when  $C = 1$ .

Table 1.—Comparison between residual soil moisture values calculated by formula with those in Thornthwaite and Mather's tables  $K = 300$  mm

$t \pm A$ mm	$\frac{-t \pm A}{2.3K}$	Residual moisture from formula $\frac{-t \pm A}{2.3K}$ $K \times 10$ in mm	Residual moisture from tables of Thornthwaite and Mather in mm
1	-0.001449	299.0	299
5	-0.007246	295.0	295
10	-0.01449	290.1	290
20	-0.02899	280.6	280
150	-0.2174	181.8	181
200	-0.2899	153.9	153
250	-0.3623	130.3	130
300	-0.4348	110.2	109
350	-0.5072	93.31	92
400	-0.5797	78.96	78

Discussion

The equation developed can be applied in any model which uses the assumption that E/PET falls linearly with a decrease in soil moisture. It is adaptable to any definition of extractable water, once the values used for its upper and lower limits are known. When the curve is of the 1-2-5 type of Figure 1, the upper limit of the extractable water is C. A greater quantity of more precise evapotranspiration data in relation to root depth will help to improve the guide for choosing C in the model of Figure 1. The lower limit may vary between the 15 bar percentage and oven-dry soil (0 per cent). The formula permits the rapid calculation of residual moisture with any desk electronic calculator with a power function; in addition, it facilitates easier programming in computers. A soil of any value of extractable water can be handled by the formula, thus providing more flexibility than Thornthwaite and Mather's tables.

Summary

The article discussed the experimental basis of a soil moisture depletion model which combines a constant *f* stage of evapotranspiration with a decreasing E/PET stage, in addition to the use during the latter stage of the assumption that the ratio of evapotranspiration to potential evapotranspiration, decreases linearly with decreasing extractable soil moisture. A formula for residual moisture based on the assumption has been

derived and it agrees well with the values in the tables of Thornthwaite and Mather. Its use has been demonstrated, especially under tropical conditions. The formula has the advantage of flexibility as it can be applied to soils of any value of total extractable water, can be quickly computed with a desk electronic calculator with a power function, and can be easily used in computer programs

Literature cited

- ALLEN, W. H. and LAMBERT, J. R. Application of the principle of calculated risk to scheduling of supplemental irrigation I. Concepts. *Agricultural Meteorology* 8:193-201 1971
- ÅNGSTROM, A. The albedo of surfaces of ground. *Geografiska Annaler* H4:323-342. 1925
- ANGUS, D. E. Agricultural water use. *Advances in Agronomy* 11:19-35. 1959.
- BAIER, W. and ROBERTSON, G. The performance of soil moisture estimates as compared with the direct use of climatological data for estimating crop yields. *Agricultural Meteorology* 5:17-42. 1968
- and ROBERTSON, G. W. Climate estimates of average and probable irrigation requirements and of seasonal drainage in Canada. *Journal of Hydrology* 10:20-37. 1970.
- BAUMGARINER, A. Energetic bases for differential vaporization from forest and agricultural lands. *In* International Symposium of Forest Hydrology. Pennsylvania State University. 1965. pp. 381-389
- BERNARD, E. A. L'évaporation annuelle de la forêt équatoriale congolaise et son influence sur la pluviosité. *Congrès union internationale de instituts de recherches forestieres* 11:201-204. 1953.
- BRUTSAERI, W. Evaluation of some practical methods of estimating evapotranspiration in arid climates at low latitudes. *Water Resources Research* 1:187-191. 1965.
- CAMPBELL, R. B., CHANG, J. H. and COX, D. C. Evapotranspiration of sugarcane in Hawaii measured by in-field lysimeter in relation to climate. *International Society Sugar Cane Technologists. Proceedings 10th Congress* 1959. pp. 637-649.
- CHANG, JEN-HU. Microclimate of sugat cane. *The Hawaiian Planter's Record* 56:195-225. 1964
- DALE, R. F. Evapotranspiration and weather forecasts for agriculture. *In* Evapotranspiration and its role in water resources management. American Society of Agronomy Conference Proceedings. Chicago. 1966. pp. 10, 11, 13.
- DAVID, W. P. and HILER, E. A. Predicting irrigation requirements of crops. *Proceedings. American Society of Civil Engineers* 96(IR3):241-253. 1970
- DAVIES, J. A. and BUTTIMOR, P. H. Reflection coefficients, heating coefficients and net radiation at Simcoe, Southern Ontario. *Agricultural Meteorology* 6: 373-386. 1969.



14. DEANMEAD, O. T. and SHAW, R. H. Availability of soil water to plants as affected by soil moisture content and meteorological conditions. *Agronomy Journal* 54:385-390. 1962
15. DECKER, W. L. Potential evapotranspiration in humid and arid climates. *In* Evapotranspiration and its role in water resources management. American Society of Agronomy. Conference Proceedings. Chicago 1966.
16. DeWIT, C. T. Transpiration and crop yields. Institute and Herbage. Wageningen, Netherlands 1958. 88 p. of Biological and Chemical Research on Field Crops pp 23-26.
17. DOUGLASS, J. M. Effects of species and arrangement of forests on evapotranspiration. *In* International Symposium on Forest Hydrology. Pennsylvania State U Pergamon Press. 1965. pp. 451-465.
18. DUPRIEZ, G. I. L'évaporation et les besoins en eau des différentes cultures dans la région de Mvuazi (Bas-Congo). L'Institut National Pour l'Etude Agronomique Du Congo. Serie Scientifique N° 106. 1964. 106 p
19. EAGLEMAN, J. R. An experimentally derived model for actual evapotranspiration. *Agricultural Meteorology* 8:385-394. 1971
20. ———. A simpler empirical expression for actual evapotranspiration rates - a reply. *Agricultural Meteorology* 11:453. 1973.
21. EKERN, P. Evapotranspiration of pineapple in Hawaii. *Plant Physiology* 40:736-739. 1965
22. FERRI, M. G. Problems of water relations of some Brazilian vegetation types, with special consideration of the concepts of xeromorphy and xerophytism. *In* Plant-water relationships in arid and semi-arid conditions. Proceedings of the Madrid Symposium UNESCO. 1961. pp 191-197
23. FORSYTHE, W. M. and VAZQUEZ, O. Effect of air-drying on the water retention curves of disturbed samples of three soils of Costa Rica derived from volcanic ash. *Turrialba* 23:200-207. 1973.
24. GARCIA, J. and LOPEZ, J. Fórmula para el cálculo de la evapotranspiración potencial adaptada al trópico (15°N-15°S). *Agronomía Tropical (Venezuela)* 20: 335-345. 1970
25. GARDNER, W. R. and HILLEL, D. I. The relation of external evaporative conditions to the drying of soils. *Journal of Geophysical Research* 67:4319-4325. 1962
26. ———. Dynamic aspects of soil-water availability to plants. *Annual Review of Plant Physiology* 16: 323-342. 1965.
27. GATES, D. M. and HANKS, R. J. Plant factors affecting evapotranspiration. *In* Irrigation of agricultural lands (Agronomy Series N° 11). American Society of Agronomy 1967. pp 506-520.
28. HALLAIRE, M. La circulation de l'eau dans le sol sous l'effet de l'évapotranspiration et l'utilisation des réserves profondes. *In* Symposium on plant-water relationships in arid and semi-arid conditions. Proceedings UNESCO. 1962. pp 49-56.
29. HALL, C. W. and RODRIGUEZ-ARIAS, J. H. Application of Newton's equation to moisture removal from shelled corn at 40-140°F. *Journal of Agricultural Engineering Research* 3:275-280. 1958
30. HAMON, W. R. Evapotranspiration and water yield predictions. *In* Evapotranspiration and its role in water resources management. American Society of Agronomy. Conference Proceedings. Chicago 1966. pp 8, 9, 13.
31. HARGREAVES, G. H. Consumptive use computation from evaporation pan data. *Proc. of Irrig and Drainage. Special Conference. American Society of Civil Engineers. Las Vegas, Nevada. 1966. pp 2-1*
32. HASAN, M. R. and JONES, P. S. Measured and predicted evaporation at Pasaje, Ecuador. *Proceedings American Society of Civil Engineers (IR3)*, 98:511-516. 1972.
33. HILGEMAN, R. and RODNEY, D. R. Commercial citrus production in Arizona. *Arizona Agricultural Experiment Station Report 7. 1961. 31 p.*
34. JENSEN, M. C., MIDDLETON, J. E. and PRUIT, W. O. Scheduling irrigation from pan evaporation. *Washington Agricultural Experiment Station Bulletin* 459. 1961. 28 p.
35. KESSLER, J. Use of the water balance in drainage investigations. *Annual Report of the International Institute of Land Reclamation and Improvement, Holland 1966. pp 18-27.*
36. LANGLEY, M. N. Evapotranspiration and irrigation project planning and management. *In* Evapotranspiration and its role in water resources management. American Society of Agronomy. Conference Proceedings. Chicago 1966. pp 6,7, 16.
37. LEGARDA, L. and FORSYTHE, W. M. Estudio comparativo entre la evaporación calculada por varias fórmulas y la evaporación de tanque, medida en tres lugares tropicales. *Turrialba* 22:282-292. 1972.
38. LEMON, E. R. Plant factors and transpiration; the plant community. *In* Evapotranspiration and its role in water resources management. American Society of Agronomy. Conference Proceedings. Chicago 1966. pp 17, 18, 19, 20, 21, 26.
39. LINACRE, E. T. A simpler empirical expression for actual evapotranspiration rates - a discussion. *Agricultural Meteorology* 11:451-452. 1973.
40. MAKKINK, G. F. and VAN HEEMST, H. D. J. The actual evapotranspiration as a function of the potential evapotranspiration and the soil moisture tension. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 4:67-72. 1956
41. McCOWN, R. L. An evaluation of the influence of available water storage capacity on growing season length and yield of tropical pastures using simple water balance models. *Agricultural Meteorology* 11: 53-63. 1973.
42. MILLER, E. and KLUTE, A. The dynamics of soil water. Part I: Mechanical forces. *In* Irrigation of agricultural lands. American Society of Agronomy, (Agronomy Series N° 11) 1967. pp. 209-244.
43. PENMAN, H. I. and SCHOFIELD, R. K. Drainage and evaporation from fallow soil at Rothamstead. *Journal of Agricultural Science* 31:74-109. 1941

44. PENMAN, H. L. The dependence of transpiration on weather and soil conditions. *Journal of Soil Science* 174:89 1943.
45. ———. Natural evaporation from open base soil and grass. *Proceedings Royal Society of London A* 193:120-146 1948.
46. PEREIRA, H. C. and McCULLOCH, I. S. The energy balance of tropical land surfaces. *Proceedings Muntalp-WMO. Conference on Tropical Meteorology. East African Meteorology Department Nairobi, Kenya* 1960.
47. PRUITT, W. O. Empirical method of estimating evapotranspiration using primarily evaporation pans. *In* Evapotranspiration and its role in water resources management. *American Society of Agronomy. Conference Proceedings. Chicago* 1966. pp. 57-61.
48. RAMDAS, I. A. Phenomena controlling the thermal balance at the ground surface. *In* Climatology and microclimatology. *Proceedings of the Canberra Symposium UNESCO.* 1958. pp 129-133.
49. RICHARDS, I. A. and WADLEIGH, C. H. Soil water and plant growth. *In* Shaw, B. T. (ed.) *Soil physical conditions and plant growth.* New York, Academic Press, 1952. pp. 73-251.
50. RITCHIE, J. T., BURNETT, E. and HENDERSON, R. C. Dryland evaporative flux in a subhumid climate III. Soil water influence. *Agronomy Journal* 64:168-173. 1972.
51. ——— and JORDAN, W. R. Dryland evaporative flux in a subhumid climate. IV. Relation to plant water status. *Agronomy Journal* 64:173-176 1972.
52. ———. Influence of soil water status and meteorological conditions on evaporation from a corn canopy. *Agronomy Journal* 65:893-897. 1973.
53. RIJTEMA, P. E. An analysis of actual evapotranspiration. Wageningen, Netherlands, Centre for Agricultural Publications and Documentation. *Agricultural Research Report N° 659* 1965. 107 p.
54. SHOCKLEY, D. Evapotranspiration and farm irrigation planning and management. *In* Evapotranspiration and its role in water resources management. *American Society of Agronomy. Conference Proceedings Chicago* 1966. pp. 3-5.
55. SMITH, G. W. The relation between rainfall, soil water and yield of copra on a coconut estate in Trinidad. *Journal of Applied Ecology* 3:117-125 1966.
56. STANHILL, G. The effects of afforestation on water resources. *La-Yaaran* 12:3-8 Rehovot, Israel 1962.
57. TANNER, C. B. Measurement of evapotranspiration. *In* Irrigation of agricultural lands. Madison, Wisconsin, *American Society of Agronomy.* 1967. pp 534-574.
58. TAYLOR, S. A. Use of the mean soil moisture tension to evaluate the effect of soil moisture on crop yields. *Soil Science* 74:217-226 1952.
59. TAYLOR, S. A. Water relations of field crops. *In* Symposium on plant water relationships in arid and semi-arid conditions. *Proceedings UNESCO* 1962. pp. 303-308.
60. THORNIHWAITE, C. W. An approach toward a rational classification of climate. *Geographic Review* 38:55-94 1948.
61. ———. A re-examination of the concept and measurement of potential evapotranspiration. *In* The measurement of potential evapotranspiration. J. R. Mather (ed.) Seabrook, New Jersey. *John Hopkins University Laboratory of Climatology.* 1954. pp 200-209.
62. ——— and MATHER, J. R. The water budget and its use in irrigation. *In* Water. *Yearbook of Agriculture* 1955. USDA. pp 346-358.
63. ——— and MATHER, J. R. The water balance. *Center for New Jersey. Drexel Institute of Technology* 1955. 104 p.
64. ——— and MATHER, J. R. Instructions and tables for computing potential evapotranspiration and the water balance. *Center for New Jersey. Drexel Institute of Technology. Laboratory of Climatology.* 1957. 1957. 311 p.
65. VAADIA, Y., RANEY, F. and HAGAN, F. Plant water deficits and physiological processes. *Annual Review of Plant Physiology* 12:265-292 1961.
66. VAN BAVEL, C. H. M., NEWMAN, J. E. and HILGEMAN, R. H. Climate and estimated water use by an orange orchard. *Agricultural Meteorology* 4:27-37. 1967.
67. ———. Further to the hydrologic importance of transpiration control by stomata. *Water Resources Research* 4:1387-1388. 1968.
68. VEIHMEYER, F. I. and HENDRICKSON, A. H. Does transpiration decrease as the soil moisture decreases? *American Geophysical Union. Transactions* 36:425-448. 1955.
69. VIETS, F. G., Jr. Fertilizers and efficient water use. *Advances in Agronomy* 14:223-264 1962.
70. VISSER, W. C. Soil moisture content and evapotranspiration. *International Association for Scientific Hydrology. Committee for evaluation. General Assembly of Berkeley. Publication N° 62.* 1963. pp 288-294.
71. WIEGAND, C. I. and TAYLOR, S. A. The temperature dependence of the drying of soil columns. *7th International Congress of Soil Science. Madison, Wisconsin, U.S.A. Transactions Vol 1:169-178* 1960.
72. ZAHNER, R. Refinement in empirical functions for realistic soil moisture regimes under forest cover. *International Symposium on Forest Hydrology. Pennsylvania State U. Pergamon Press,* 1965. pp 261-274.
73. ——— and STAGE, A. R. A procedure for calculating daily moisture stress and its utility in regressions of tree growth on weather. *Ecology* 47:64-74. 1966.

# Acción del nematicida Furadan sobre las producciones de $\text{CO}_2$ , $\text{N-NH}_4$ y $\text{N-NO}_3$ en el suelo<sup>\*1/</sup>

RAMIRO JARAMILLO C \*\*, MARIO BLASCO L \*\*\*

## ABSTRACT

*Studies were conducted to assess the influence of the nematicide Furadan (2,3-dihydro-2,2-dimethyl-7-benzofuranyl methylcarbamate) in some soil processes. After 1, 3 and 9 weeks incubation,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_4$ - and  $\text{NO}_3$ -N were determined in soil samples treated with Furadan levels 0, 1.5, 3.0, 4.5 (current agronomic practice) and 6.0 ppm active ingredient.  $\text{CO}_2$  and  $\text{NH}_4$ -N production was inhibited during the first week incubation period, then both products tended to increase progressively their concentration with the Furadan levels. In all treatments  $\text{NO}_3$ -N always increased with the application rates of Furadan. As evidenced by the curves, Furadan did not damage the soil activity. The authors.*

## Introducción

EL extraordinario incremento observado durante los últimos años en el uso de plaguicidas en las prácticas agrícolas ha suscitado un acentuado interés de la investigación, primero dirigido a determinar la eficacia de los productos y, ahora, orientado más bien a medir el impacto del efecto residual dejado por los plaguicidas, tanto en plantas como en suelos y aguas. La discusión entablada entre los defensores a ultranza de la conservación prístina de los ecosistemas, y aquellos que se declaran en favor de la utilización de productos químicos como una ayuda para aumentar la producción agrícola, fue comentada por Borlaug (2), quien se inclina por el empleo racional de los plaguicidas.

Diferentes autores (1, 11, 16) han estudiado, bajo distintas condiciones, los efectos de los plaguicidas en la actividad bioquímica de los suelos, como una manera adecuada para establecer la toxicidad, persistencia y biodegradabilidad de esos productos. Por su parte, Helling,

Kearney y Alexander (8), han hecho una revisión de los varios aspectos del comportamiento de los plaguicidas en el suelo, destacando para detectarlo los procedimientos analíticos de la evolución  $\text{CO}_2$ , cambios en las tasas de mineralización del nitrógeno y descomposición de la celulosa. En conjunto, se observa una definida preferencia por medir el potencial bioquímico, o respiración del suelo, como un índice de la acción y transformación de los plaguicidas, bien determinando el  $\text{CO}_2$  expelido (15, 18), o cuantificando el consumo de  $\text{O}_2$  (12). A su vez, la respiración del suelo es un índice de su metabolismo global o potencial bioquímico (7).

No solamente se ha preocupado la investigación por las consecuencias tóxicas, o contaminantes del uso de los plaguicidas, sino que también se han estudiado los efectos favorables. Así Gowen (6) encontró que la aplicación de nematicidas granulares, entre ellos el Furadan, en las bananeras de las Indias Occidentales (Caribe) acortaron el ciclo de producción de 23 a 30 días. En Florida, Weingartner, *et al.* (17) reportaron un mejoramiento en la calidad de la papa, mediante el empleo de Furadan y otros nematicidas. Por otra parte, hay evidencia (14) de que los plaguicidas pueden alterar el metabolismo del nitrógeno de las plantas, generando un aumento del contenido proteínico, e incluso, de la producción total.

Pessoa (13) hizo una revisión de los trabajos realizados con nematicidas sistémicos tanto en Costa Rica como en otros países de América Latina. Asimismo probó cuatro nematicidas (Furadan, Terracur, Namacur, y D-1410), encontrando que el Furadan propiciaba una

\* Recibido para publicación el 5 de noviembre de 1975

<sup>1/</sup> Trabajo realizado en el CATIE, Turrialba, Costa Rica

\*\* Departamento de Investigaciones Agrícolas, Tica Frutera S. A. San José, Costa Rica.

\*\*\* Especialista en Investigación Agrícola, IICA-Zona Andina, Apartado 11185, Lima, Perú

mejor germinación en el banano, mientras que el Nematicur causaba un considerable grado de toxicidad para las condiciones del experimento. Jaramillo y Blasco (10) estudiaron la acción del 1,2 dibromo-3-cloropropano (DBCP o Nematicón) en el metabolismo del suelo, determinándose las concentraciones en las que el nematicida no era fitotóxico, considerándose la liberación del bromo como una de las posibles causas perjudiciales. En Puerto Rico, Dubey, Riera y Rodríguez (5) encontraron que el DD (50-50 mezcla de 1,3 y 1,2 dicloropropano) era mucho más tóxico que el Nematicón para los microbios nitrificantes.

El presente trabajo se realizó con el propósito de determinar las implicaciones del Furadan en el metabolismo global del suelo y en la mineralización del nitrógeno, como índices de biodegradabilidad y toxicidad en áreas dedicadas al cultivo de banano en Costa Rica.

*Materiales y métodos*

El suelo utilizado en el experimento proviene de la plantación bananera "Tica Frutera" localizada en el área de Guápiles, Costa Rica, y cuyo análisis de caracterización físico-química fue publicado previamente en otro trabajo (10).

El nematicida empleado fue el Furadan, también conocido como Carbofuran, nombres comerciales del compuesto sólido cristalino 2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-benzofuranil metilcarbamato como ingrediente activo, con fórmula empírica  $C_{12}H_{13}NO_3$  (65,2 por ciento carbono, 6,8 por ciento hidrógeno, 6,3 por ciento nitrógeno, 21,7 por ciento oxígeno). En el experimento se utilizó Furadan con 75 por ciento de ingrediente activo.

El suelo se tamizó en mallas de 2 mm, tomándose porciones de 10 g para cada tubo de ensayo, ajustando su humedad a la tensión de 0,3 bares, adicionándose dosis de 0, 1,5, 3,0, 4,5 y 6,0 ppm de ingrediente activo que equivalen, respectivamente, a la aplicación de 0, 30, 60, 90 y 120 kg/ha de Furadan 5 por ciento. Las muestras así tratadas se incubaron a temperatura constante de 30°C, por períodos de 1, 3 y 9 semanas. Los tubos de ensayo fueron tapados en forma hermética, proporcionándose la aireación por el método del peróxido de bario de Cornfield (4) midiéndose conforme a esa misma marcha analítica, el  $CO_2$  desarrollado en los tubos. Además, para cada período de incubación se determinaron las concentraciones de  $N-NH_4$  y  $N-NO_3$  por el método de Bremner (3).

*Resultados y discusión*

En las Figuras 1, 2 y 3, se pueden observar las producciones de  $CO_2$  (mg/100 g suelo) para los distintos períodos de incubación y tratamientos. En la primera semana (Fig. 1), la tasa de depresión metabólica del suelo aparece claramente relacionada con el incremento de la concentración del nematicida y, en consecuencia, la máxima evolución de  $CO_2$  correspondió al testigo. Pero con el transcurso del tiempo de incubación a 3 y 9 semanas (Figs. 2 y 3), el proceso se invierte y, así, el potencial bioquímico del suelo se recupera, aumentando

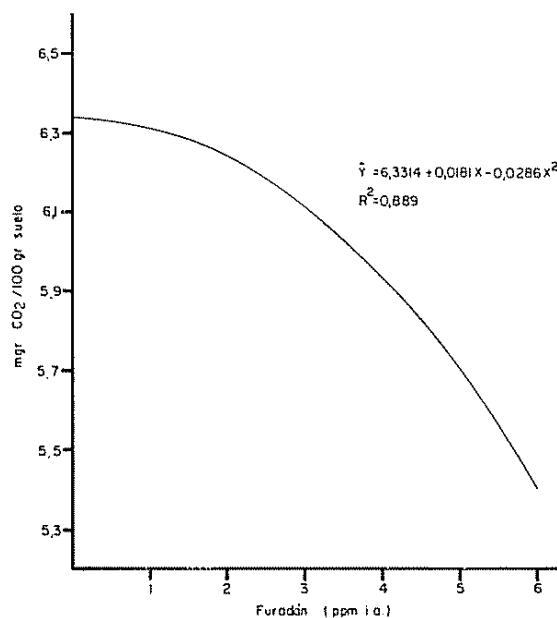


Fig. 1.—Producción de  $CO_2$  en suelos incubados durante 1 semana a distintas concentraciones de Furadán.

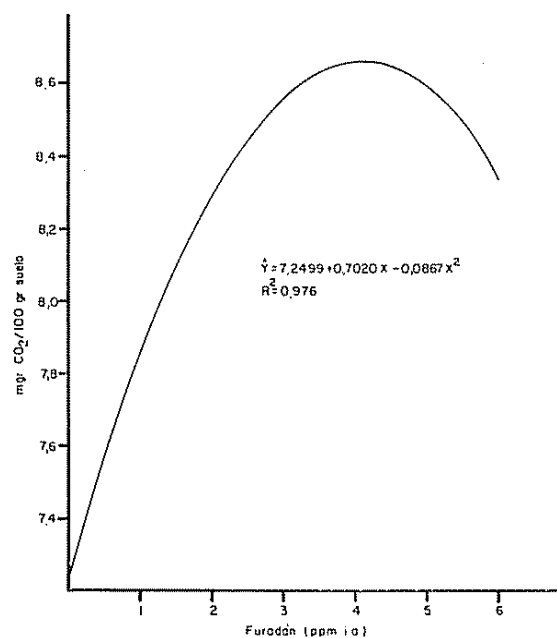


Fig. 2.—Producción de  $CO_2$  en suelos incubados durante 3 semanas a distintas concentraciones de Furadán.

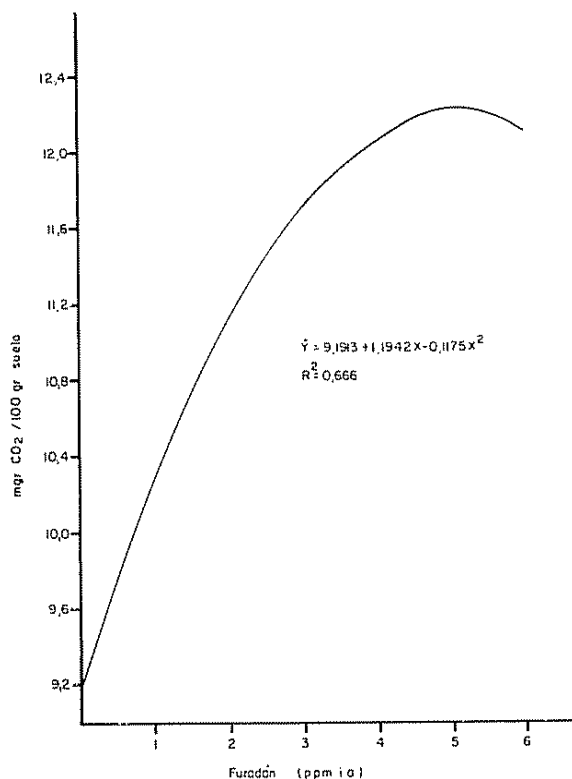


Fig. 3—Producción de  $\text{CO}_2$  en suelos incubados durante 9 semanas a distintas concentraciones de Furadán

con la concentración de las dosis, salvo la pequeña disminución de la curva cuando alcanza las 6 ppm, aunque superando también al tratamiento testigo. Comparativamente la producción acumulada de  $\text{CO}_2$  por el testigo fue de 22,8 mg/100 g de suelo, mientras que el tratamiento de 4,5 ppm, dosis de empleo agrícola común en Costa Rica, fue de 26,7 mg/100 g

Es evidente que, en principio, la aplicación de Furadan afecta a la actividad metabólica de los microorganismos, significando que el nematicida actúa asimismo como microbicida. Al respecto cabe señalar que Hubbell *et al.* (9) encontraron que el Furadan, aplicado en dosis de 11,2 kg/ha de ingrediente activo (aproximadamente se acerca a la dosis máxima utilizada en el presente experimento), disminuía el número de la flora microbiana en suelos de Florida, Estados Unidos, ocurriendo las reducciones más drásticas en algas y hongos

Sin embargo, a partir de la tercera semana el aumento registrado en la producción de  $\text{CO}_2$  es demostrativo de que la población microbiana sobreviviente se adapta a la presencia del nematicida en el suelo, y luego supera en actividad y proliferación a la población del testigo. Parece evidente que los microbios fueron capaces de biodegradar el Furadan, usándolo como una nueva fuente energética. Es decir, el nematicida utilizado no muestra una acción residual persistente sobre el metabolismo microbiano del suelo dentro del ámbito de las aplicaciones empleadas en el laboratorio.

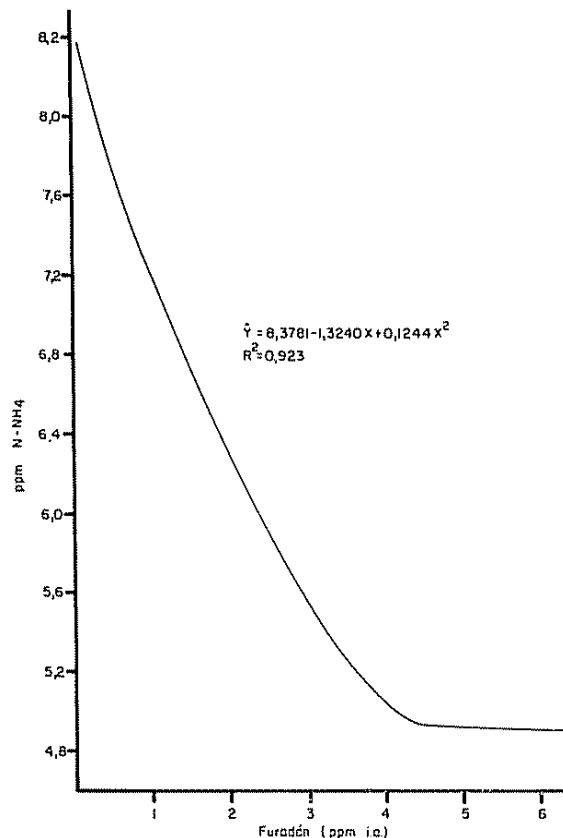


Fig. 4—Producción de nitrógeno amoniacal en suelos incubados durante 1 semana a distintas concentraciones de Furadán

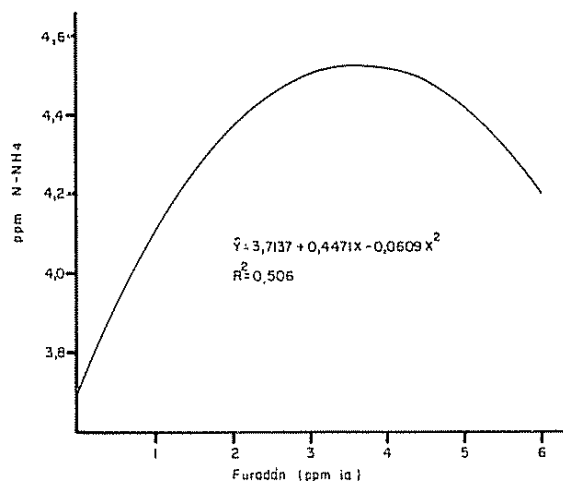


Fig. 5—Producción de nitrógeno amoniacal en suelos incubados durante 3 semanas a distintas concentraciones de Furadán.

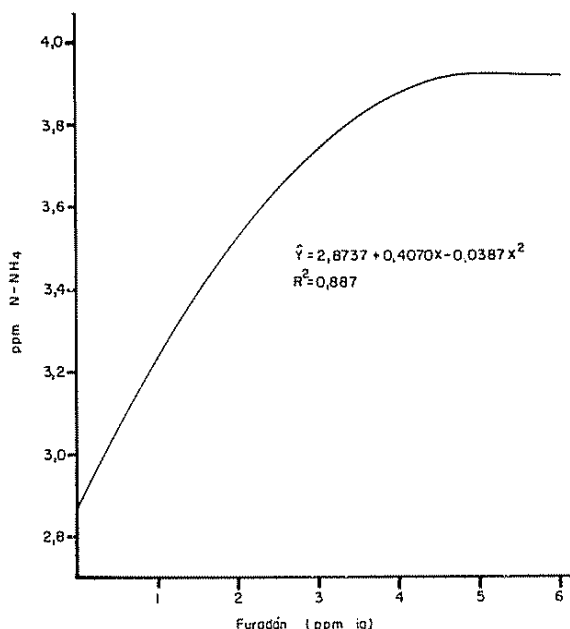
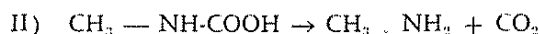
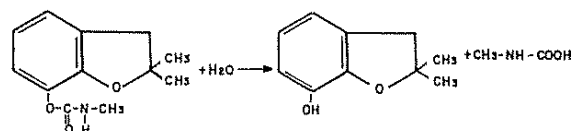


Fig. 6.—Producción de nitrógeno amoniacal en suelos incubados durante 9 semanas a distintas concentraciones de Furadán

La representación gráfica de la producción de nitrógeno amoniacal aparece en las Figuras 4, 5 y 6. Al comparar dichas gráficas con las curvas de evolución de CO<sub>2</sub> se observa similitud de comportamiento. En la primera semana de aplicación el Furadan inhibió la producción de N-NH<sub>4</sub> en forma progresiva con las concentraciones usadas, alcanzado para la dosis de 4,5 ppm, una disminución del 41 por ciento con relación al testigo. Después, el comportamiento se invierte aumentando la concentración de N-NH<sub>4</sub> con las dosis, llegando a la mencionada concentración de 4,5 ppm de Furadan, a superar al testigo en un 21 y 36 por ciento para las 3 y 9 semanas de incubación respectivamente.

Es normal que las curvas de CO<sub>2</sub> y N-NH<sub>4</sub> se asemejen por cuanto ambas son, principalmente, producto del metabolismo de microorganismos heterótrofos. En suma, después de una etapa inicial de inhibición, los organismos heterótrofos se recuperaron biodegradando el Furadan con cierta facilidad, y obteniendo energía utilizable adicional de dicho nematocida.

Cabría suponer que la disminución en la producción de N-NH<sub>4</sub> en los primeros estados de la incubación, se reflejaría de la misma manera en el proceso de nitrificación. Sin embargo no ocurrió así, lo cual demuestra que el comportamiento de los microorganismos autótrofos ante el Furadan es distinto al observado en los heterótrofos. Aún sin cuantificar la reacción bioquímica, el comportamiento de los microbios autótrofos hace suponer la siguiente hidrólisis inicial del nematocida.



Es bien conocido que la hidrólisis del ácido carbámico es inestable. En consecuencia, el metil carbamato puede derivar a la formación de metilamina y dióxido de carbono. Así, desde un principio, los autótrofos tendrían cierta independencia de los productos metabolizados por los heterótrofos, por cuanto dispondrían de CO<sub>2</sub> de donde, obligatoriamente, derivan el carbono que necesitan, y de CH<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>, cuya presencia abre la posibilidad de que se produzca una oxidación para dar N-NO<sub>3</sub>.

En las Figuras 7, 8 y 9, se presentan los resultados obtenidos para el nitrógeno nítrico en los diferentes tratamientos. El Furadan estimuló el proceso de nitrificación notándose que, para la dosis de 4,5 ppm, los incrementos con respecto al testigo son de 13 por ciento (1ª semana incubación) y 21 por ciento (3ª semana de incubación).

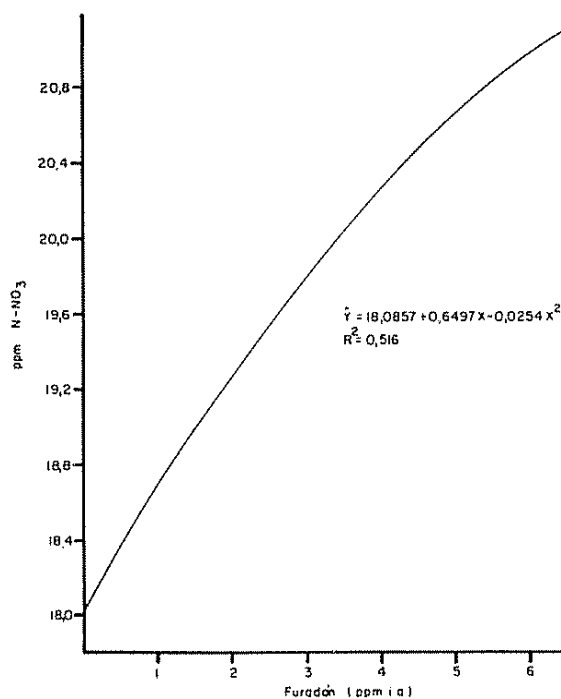


Fig. 7.—Producción de nitrógeno nítrico en suelos incubados durante 1 semana a distintas concentraciones de Furadán

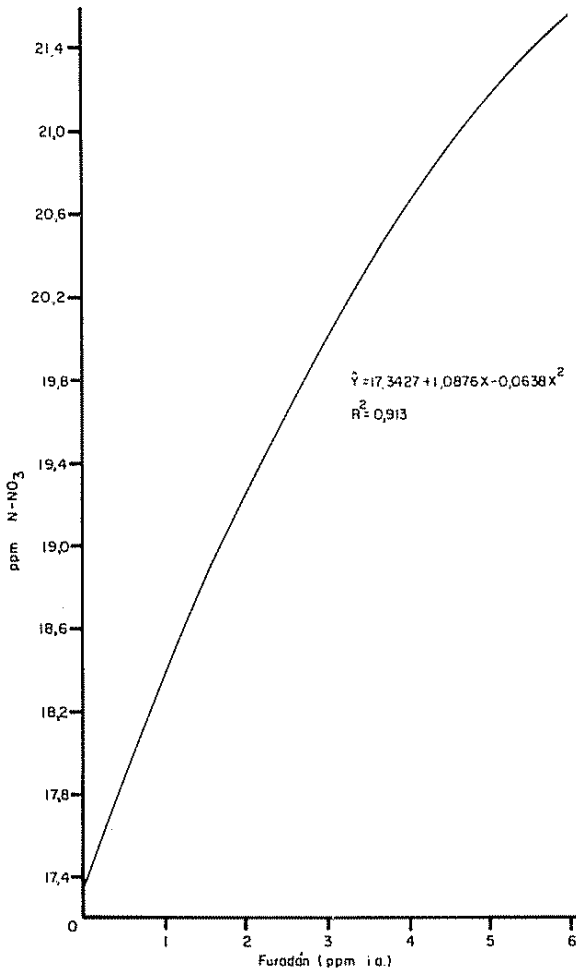


Fig. 8—Producción de nitrógeno nítrico en suelos incubados durante 3 semanas a distintas concentraciones de Furadán

Por el contrario, se nota cierto decaimiento en el potencial de la nitrificación en la novena semana de incubación (Fig. 9), si bien los tratamientos siguen superando al testigo. El decaimiento puede atribuirse a dos causas no excluyentes. Por una parte, el agotamiento de las fuentes de  $\text{CO}_2$  y  $\text{CH}_3\text{NH}_2$  provenientes del nematocida. Y por otra, la menor disponibilidad de  $\text{N-NH}_4$  proveniente del primer período de incubación (Fig. 4), que se traduce en un pequeño lapso de tiempo en el cual disminuye la producción de  $\text{N-NO}_3$ , para recuperarse nuevamente con el mayor flujo de  $\text{N-NH}_4$ . En todo caso, es evidente que el Furadán no afectó negativamente a los microbios oxidadores, o autótrofos, que intervienen en el proceso de la nitrificación.

Se puede concluir que el nematocida Furadán no mostró efectos tóxicos, o detrimentales, sobre la actividad del suelo expresada como  $\text{CO}_2$ , y tampoco tuvo consecuencias adversas en los procesos de amonificación y nitrificación. Por el contrario, las tasas de producción

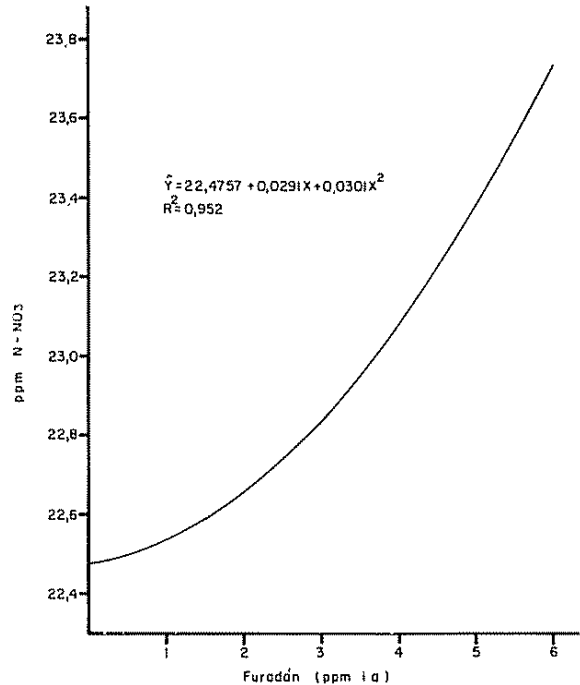


Fig. 9—Producción de nitrógeno nítrico en suelos incubados durante 9 semanas a distintas concentraciones de Furadán

de  $\text{N-NH}_4$  y  $\text{N-NO}_3$  tendieron a aumentar en presencia del Furadán. Todo ello puede interpretarse en el sentido de que el nematocida es de fácil biodegradabilidad.

### Resumen

Se llevaron a cabo estudios dirigidos a determinar la influencia del nematocida Furadán (2,3 dihidro 2,2-dimetil-7-benzofuranil metilcarbamato) en algunas actividades del suelo. Después de 1, 3 y 9 semanas de incubación, se midieron las producciones de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N-NH}_4$  y  $\text{N-NO}_3$ , en muestras de suelos tratados con 0, 1,5, 3,0, 4,5 (dosis común de aplicación agrícola) y 6,0 ppm de ingrediente activo de Furadán.

Los niveles de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N-NH}_4$  disminuyeron en la primera semana de incubación, para luego aumentar progresivamente con las dosis de Furadán. En todos los tratamientos  $\text{N-NO}_3$  aumentó siempre con las aplicaciones de Furadán. Los resultados obtenidos demostraron que el Furadán no mostró efectos dañinos sobre la actividad del suelo.

### Literatura citada

- 1 BLIYEV, O. K. Effect of herbicides on the biological activity of soils. *Soviet Soil Science* 5:423-429 1973.

- 2 BORLAUG, N. E. Mankind and civilization at another crossroad: In: Balance with nature, a biological myth Bioscience 22:41-44 1972.
- 3 BREMMER, J. M. Inorganic forms of nitrogen In Black, C. A. ed. Methods of soil analysis. Madison, Wisconsin, American Society of Agronomy, 1965 pp 1179-1237.
- 4 CORNFIELD, A. H. A simple technique for determining mineralization of carbon during incubation of soil treated with organic materials Plant and Soil 14:90-93 1961.
- 5 DUBEY, H. D., RIERA, A. y RODRIGUEZ, R. L. Effect of nematicides Nemagon and DD on mineralization, nitrification, soil microbial population, and soil fertility status of two tropical soils The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico 59:43-50 1975.
- 6 GOWEN, S. R. Some preliminary findings of the value of granular nematicides for improving banana production in the Windward Islands. PANS 20:400-402 1974.
- 7 GRANADOS, M. y BLASCO, M. Metabolismo en términos de CO<sub>2</sub> de los suelos cacaoteros de Turrialba, Costa Rica Turrialba 22:415-419 1972.
- 8 HELLING, CH. S., KEARNEY, Ph. C. y ALEXANDER, M. Behavior of pesticides in soils. Advances in Agronomy 23:147-240 1971.
- 9 HUBBELL, D. H. *et al.* Microbiological effects and persistence of some pesticide combinations in soil. Journal of Environmental Quality 2:96-99 1973.
- 10 JARAMILLO, R. y BLASCO L., M. Acción del nematocida 1,2-dibromo-3-cloropropano sobre el metabolismo del suelo Turrialba 23:480-482 1973.
- 11 KARANTH, N. G. H. y VASANTHARAJAN, V. N. Persistence and effect of Dexon on soil respiration Soil Biology and Biochemistry 5:679-684 1973.
- 12 LIU, L. C. y CIBES-VIADE, H. R. Effect of various herbicides on the respiration of soil microorganisms. The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico 56:417-425 1972.
- 13 PESSOA, O. Estudio evaluativo de cuatro nematocidas sistémicos en el tratamiento de rizomas de banano (*Musa acuminata* AAA). Tesis Ing. Agr. San José, Universidad de Costa Rica, 1973 59 p.
- 14 ROTIMAN, G. A., TWEEDY, J. A. y KAPUSTA, G. Effect of simazine and diuron on the nitrogen content and dry weight of wheat and sorghum Agronomy Journal 66:701-702 1974.
- 15 TIEDJE, J. M. y MASON, B. B. Biodegradation of nitroacetate (NTA) in soils Soil Science Society of America Proceedings 38:278-283 1974.
- 16 WAINWRIGHT, M. y PUGH, G. J. H. The effects of fungicides on certain chemical and microbial properties of soils Soil Biology and Biochemistry 6:263-267 1974.
- 17 WEINGARTNER, D. P. *et al.* Improving the quality of potato tubers through use of nematicides. Soils and Crop Science Society of Florida 33:67-72 1974.
- 18 WOLF, D. C. y MARTIN, J. P. Microbial degradation of 2-Carbon-14 Bromocil and Terbacil. Soil Science Society of America Proceedings 38:921-925 1974.



# Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. V. Growth-substance content during flower bud enlargement and anthesis\*

N. H. GOPAL, D. VENKATARAMANAN\*\*

## COMPENDIO

*Se estudiaron los cambios progresivos en el contenido de sustancias promotoras del crecimiento y sustancias inhibidoras del crecimiento en fracciones ácidas, neutrales y acuosas de yemas maduras de flores (antes de siego de aspersión), durante su renovado crecimiento (después del tratamiento con agua) y en flores plenamente abiertas, usando plantas de 11 años de Coffea arabica L. cv 'S.795' que crecían en el campo. Se discute el papel fisiológico de estos contenidos de sustancias de crecimiento (promotoras e inhibidores) y su balance (contenido total de tres fracciones) durante el crecimiento de las yemas y la floración, a la luz del conocimiento existente sobre la influencia de hormonas endógenas de crecimiento específicas así como también de su balance en los mecanismos florales de las plantas de café — Los autores*

### Introduction

**F**LOWERING phenomena in coffee is still one of the great mysteries of coffee technology. Even though coffee is a short-day plant (11), it is often stated that in regions close to the Equator flower bud initiation takes place at any period of the year where the day length remains practically the same throughout the year (26). However, even in Equatorial areas, coffee flowering exhibits a yearly periodicity. This appears to be due to well defined wet and dry seasons. In India, though flower buds are formed continuously starting from about September to March, the blossom is usually completed in one flush after the receipt of blossom showers. Thus, in India, the flowering habit falls under the latter category.

In many glass-house grown coffee varieties, it was found that flower buds are formed under short-day conditions (25, 27, 33). However, this cannot be safely

inferred in view of the recent observations on photoperiodic response of mature trees of arabica coffee at Ruiru, Kenya (8). Also, the plants need not be grown continuously under short-day conditions until they produce flower buds which is practically impossible under natural ecoclimate. Rather it appears to be sufficient, if the plants get an inductive stimulus through short-photoperiods for the initiation of floral cells in axillary buds which ultimately leads to the formation of flower buds when factors other than photoperiods are favourable (14). The initiation of floral cells in axillary buds appears to be caused by endogenous hormonal balance (13), and this favourable concentration of hormone(s) might "set in" by the inductive stimulus of short-photoperiods.

### Brief review of literature

Many aspects related to floral physiology are not yet clearly understood. Therefore, a series of investigations on flowering in coffee were initiated at Central Coffee Research Institute during 1970. The results obtained so far on different aspects of floral phenomena were reported (15, 22, 14, 19, 17, 20, 16, 18).

Under normal South Indian eco-climatic conditions and in the areas influenced by South-West monsoon

\* Received for publication September 8th, 1975

\*\* Plant Physiologist and Research Assistant respectively, Division of Plant Physiology, Central Coffee Research Institute, Coffee Research Station-577117 Chikmagalur District Karnataka India

rains, flower buds are usually visible on arabica coffee from September onwards, but in some years from October-November or even December flower buds continue to form in succession up to January-February (14), or even March, in the event of delayed blossom showers. After attaining a specific size, the mature "flower buds" stop growing into "open flowers" due to insufficient water in the soil around the plants, as also inside the plant including the flower buds at that period. Only after the fall of adequate quantity of rains (blossom showers) the flower buds resume their growth, and usually blossom in about 10 days (14). This pattern in coffee flowering is also common in Peru, Indonesia, Hawaii and Costa Rica (19).

The cessation of normal visible growth in mature flower buds, and after a small spell of drought their renewed enlargement and anthesis, with the advent of blossom showers or overhead irrigation in arabica coffee plants were attributed to diverse reasons which were recently reviewed (6, 7, 14). However, the preceding soil-moisture stress (1), or temperature shifts (26, 33), or rapid fall in ambient temperature also termed as chilling effect (9, 1, 6), do not appear to be the conclusive pre-requisites for the renewed growth and anthesis of flower buds after the cessation of their normal visible growth. Synchrony between the blossom of plants grown in glass-houses and under field conditions (12, 5) appears to be a rare phenomena, because the authors observed for over a number of years that the soil moisture around the plants raised in big earthenware crocks or around the plants grown in field under natural eco-climatic conditions when maintained approximately at field capacity, almost one hundred per cent blossom occurred (18). However, the flowering was slightly delayed or obtained earlier in these plants when compared to the blossom in the plants growing in pot cultures or in field which were not under experiment and responded to natural blossom showers.

Gopal and Vasudeva (14) described in detail the influence of many factors other than endogenous hormones, particularly soil moisture and water content of plants including flower buds on flowering of arabica coffee. It was stressed that opening of mature flower buds into flowers is, perhaps, controlled by a combination of factors, both external and internal, but not by a single factor (19). These authors also pointed out that the water content of mature flower buds is primarily responsible for the renewed growth after their normal visible growth was ceased, because of the fact that a) the quantitative balance of endogenous growth regulatory substances or other compounds and b) the rate of energy releasing metabolic processes is controlled to a great extent by the amount of water present in the whole plant and particularly in the mature flower buds (14, 13, 19).

#### *Present status and object of the study*

Recently, Browning (6, 7) described the internal mechanism with particular reference to the role of endogenous hormones abscisic acid, gibberellin and cytokinins on opening of mature flower buds into flowers in arabica coffee cvs 'SL 3-i' and 'SL 28', after a three

week drought period. To find out the balance of total growth regulatory substances (promoters and inhibitors) and their progressive changes during renewed growth of mature flower buds (after their normal visible growth was ceased) and until anthesis, a detailed study has been carried out using arabica coffee plants

#### *Materials and methods*

Three plants of *Coffea arabica* L. cv 'S 795' plants (11 years old) grown under natural shade at "M block" of Central Coffee Research Institute, were selected at random. The plants were free from soil-moisture stress (even no incipient wilting), nutritional disorders, pests and diseases. The situation, aspect and typical example of macro-climatological data of the farm area were previously given (14, 31). On each plant, five tertiary branches were tagged. On 19-3-1973, before blossom showers, mature flower buds at the fourth node from the tip of one branch from each of the three plants were collected. The plants were subjected to sprinkler irrigation with 80 litres of water per plant on 24-3-1973. Starting from two days after irrigation, the samples of flower buds (during enlargement) and flowers (on the first day of anthesis) were collected as was done for the first sample (Table 1).

#### *Extraction of growth-substance content*

At each time of sampling, 2 g of flower buds or flowers were extracted with cold 80 per cent methanol for 24 h at 15°C (30). The extracts were filtered through Whatman N° 2 filter paper, and evaporated to dryness at 30°C. The residue was separated into acid, neutral and aqueous fractions (32). The extracts of the three fractions were evaporated at 30°C, and the residue was dissolved in 1.5 ml of 90 per cent ethyl alcohol.

#### *Chromatography*

Measured alcohol extracts of the three fractions were spotted on Whatman N° 1 chromatographic paper and developed at laboratory temperature, by ascending technique, using the solvent isopropanol-NH<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O (by volume 8:1:1).

#### *Bioassay*

The developed and air dried chromatograms (unsprayed with any location reagents) were cut transversely into ten equal strips. Each strip was eluted in 2 ml of 2 per cent sucrose solution overnight, in dark, before assay. The biological activity of the eluates was determined by rice coleoptile straight growth technique (10).

#### *Results*

The data on the total growth-substance content (in terms of biological activity as indicated by growth in

Table 1—Growth-promoting (GP) and inhibiting (GI) substances in mature flower buds, during flower bud enlargement and anthesis in arabica coffee 'S.795' plants (in terms of rice coleoptile growth, mm, and mean of six replications).

Days after sprinkler irrigation	Fraction	GP	GI	GP/GI
0* (19-3-1973)	Acid	0.1	6.2	0.06
	Neutral	0	6.9	0
	Aqueous	0.3	4.3	0.07
	Total	0.7	17.4	0.04
2 (26-3-1973)	Acid	2.9	0	—
	Neutral	0.3	1.9	0.16
	Aqueous	2.0	0.5	4.00
	Total	5.2	2.4	2.16
4 (28-3-1973)	Acid	3.9	0	—
	Neutral	8.8	0	—
	Aqueous	11.9	0	—
	Total	24.6	0	—
6 (30-3-1973)	Acid	1.9	0	—
	Neutral	10.2	0	—
	Aqueous	11.9	0	—
	Total	24.0	0	—
8** (1-4-1973)	Acid	1.9	0	—
	Neutral	4.1	0	—
	Aqueous	6.6	0	—
	Total	12.6	0	—

\* Before sprinkler irrigation (mature flower buds)

\*\* Fully opened flowers on the first day of blossom

length, mm, of the rice coleoptiles) in the acid, neutral and aqueous fractions of the mature flower buds (before sprinkler irrigation) and during different stages of bud enlargement and of flowers (after irrigation) are presented in Table 1. Before sprinkler irrigation, in the mature flower buds, the total (total of the three fractions) content of growth inhibiting (GI) substance was 25 times more than that of growth-promoting (GP) substance (Table 1). At this stage, out of the three fractions; the GI substance was highest in the neutral fraction, and the GP substance was completely absent in this fraction. Even the other two fractions contained only very small amounts of GP substance. The ratio of GP/GI substance was very much below one, indicating a very high GI substance in the mature flower buds.

Two days after sprinkler irrigation, when the flower buds resumed their enlargement, the total content of GI substance of all the three fractions was considerably decreased, while the GP substance was remarkably increased. By four days after irrigation, the total content of GI substance was completely disappeared in all the three fractions, whereas the GP substance was further increased. The total content of GP substance at six days after irrigation was maintained at a higher level, except in acid fraction, and GI substance was continued to be absent. On the first day of blossom (eight days after irrigation), the total content of GP substance decreased by about 50 per cent of the previous amount, and there was no GI substance in any of the three fractions (Table 1).

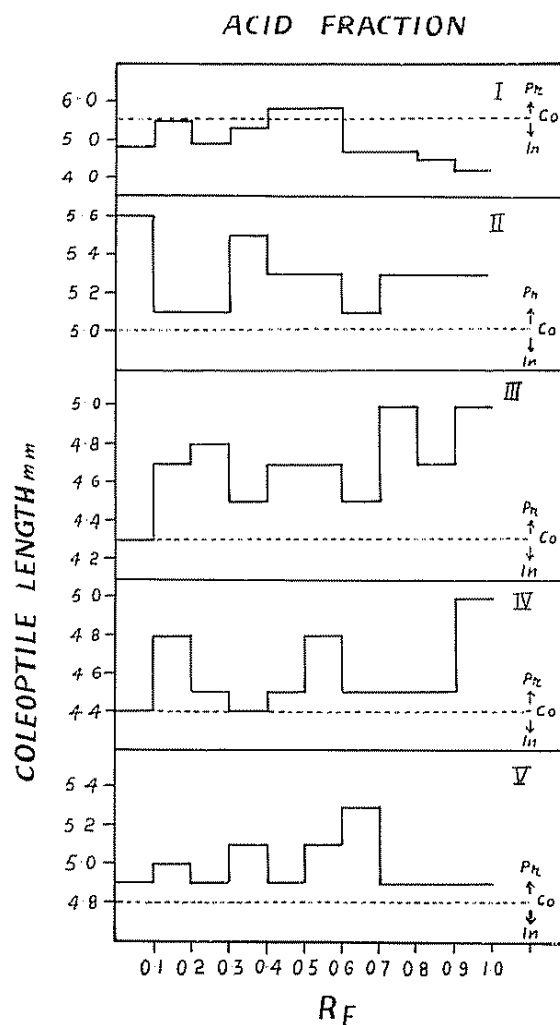


Fig 1—Growth-substance content (in terms of rice coleoptile growth, mm, mean of six replications) of mature flower buds, during bud enlargement and anthesis in S.795 arabica coffee plants. I. Before sprinkler irrigation (mature flower buds); II. 2 days after sprinkler irrigation; III. 4 days after sprinkler irrigation; IV. 6 days after sprinkler irrigation; V. 8 days after sprinkler irrigation (fully opened flowers on the first day of blossom). Co: Control; In: Inhibitor; Pr: Promoter.

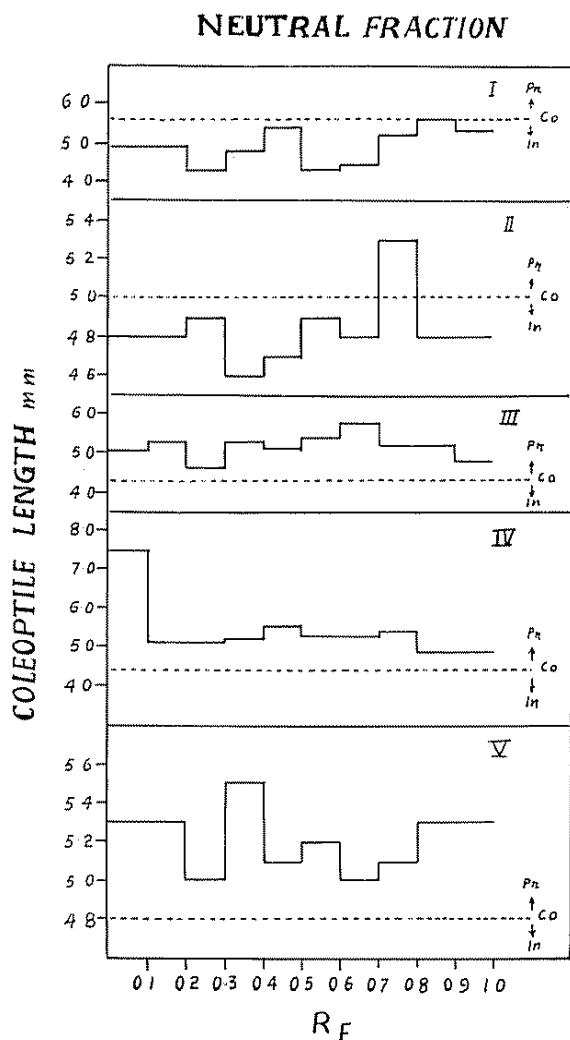


Fig. 2.—Same as described for Figure 1.

The GP substance of aqueous fraction was the highest at all the stages of flower bud enlargement including the flowers (except in mature flower buds) than in the other two fractions, whereas the GI substance was maximum in the neutral fraction out of the three fractions in the mature flower buds (before sprinkler irrigation) and also at two days after irrigation.

In the mature flower buds before sprinkler irrigation, the GI activity was maximum at the Rf value of 1.0, 0.3 (also at 0.6) and 0.5, in the acid, neutral and aqueous fractions respectively (Fig 1, 2 and 3). Two days after irrigation, and with the renewed growth of flower buds, the GI activity was highest at the Rf value of 0.4 and 0.9 in the neutral and aqueous fractions, whereas the GP activity was maximum at the Rf value of 0.1, 0.8 and 0.1, in acid, neutral and aqueous fractions. Except in the acid fraction, the highest GP activity in the other two fractions was more or less obtained

at the same Rf values, at four days after irrigation. On the first day of blossom (eight days after irrigation), the GP activity was maximum at the Rf value of 0.7, 0.4 and 0.1 (also at 0.4) in the three fractions (Fig 1, 2 and 3)

Discussion

The investigations described above revealed that the flower buds of arabica coffee cv 'S.975' plants mature by the second fortnight of February at this elevation (about 823 m), and respond well to blossom by sprinkler irrigation. The flowering occurred on the ninth day after water supply. However, under South Indian conditions, due to natural eco-climate, there is a coincidence between the mature flower bud stage and low moisture status in the soil around the feeder root zone (the portion of the root system having the maximum water absorption capacity). This condition may or may not induce wilting in plants due to this low soil moisture, which depends on the intensity of permanent and temporary shade, soil organic matter and mulch around the plants. The plants used in this study did not exhibit any signs of wilting due to low soil moisture at the

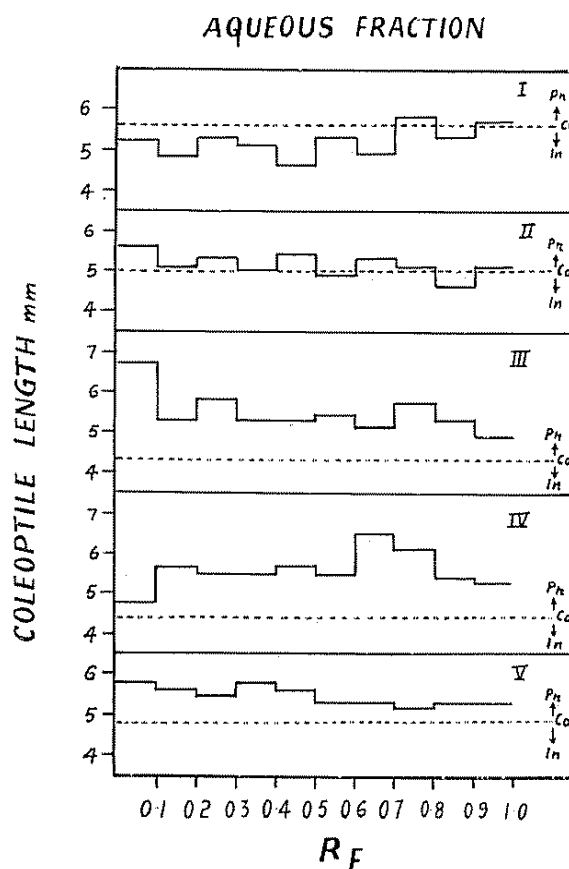


Fig. 3.—Same as described for Figure 1

time of sprinkler irrigation treatment. But, still the plants responded for resumption of flower bud enlargement and blossom with sufficient water supply. These findings once again showed that preceding soil-moisture stress to the point of leaf wilting is not necessarily a pre-requisite for renewed growth of flower buds and flowering in this coffee cultivar.

However, during the above stage of flower buds (which coincides with drought period) and before the receipt of blossom showers, it was observed that the water content of mature flower buds was less. The decrease in water content of flower buds from February to March, was found to vary from 1.04 to 6.93 per cent during different years, depending on the amount of rainfall from January until the receipt of blossom showers (4, 14). The rate of metabolic activities was also low in these plants due to low soil-moisture than in the plants with a soil moisture of three fourths of the field capacity or around field capacity (2, 3, 4, 19). Gopal and Vasudeva (14) and Gopal *et al.* (19) discussed in detail about this lower water content of mature flower buds during March (before blossom showers) and its impact on the further growth of flower buds and their opening into flowers. They also enunciated the decisive role of hydric balance between the plant as a whole and the flower buds, and its implications on the growth of flower buds during the drought period. Therefore, water is the primary factor responsible for the resumption of flower bud enlargement and ultimate blossom (after their visible growth was ceased). The associated changes in chemical energy released during the metabolic processes as well as hormonal balance after the intake of sufficient water by the plants also appears to be of vital importance for further reproductive changes in the mature flower buds, after sprinkler irrigation was given or with the advent of natural blossom showers (14, 13, 19).

With sufficient water available to the plants there were changes not only in the various metabolic activities including respiration (2, 3, 4, 13, 19), but also in the growth-substance content as obtained in the present investigations. Recently, Browning (6) postulated that resumption of enlargement of mature flower buds after their growth was ceased, appears to be operated by the absolute quantities of endogenous abscisic acid and gibberellin in the flower buds. Later, Browning (7) reported that simultaneous changes in endogenous quantities of cytokinins along with abscisic acid and gibberellin during flower bud enlargement were also responsible for the resumption of growth in mature flower buds and their ultimate blossom. However, in both these studies, the changes in these endogenous growth hormones occurred only after the over-head sprinkler irrigation was given to the plants, and before the water treatment the hormonal balance was quite different.

In the present study, it was observed that before sprinkler irrigation, the content of total endogenous growth-inhibiting substances was very high in the mature flower buds. After the water treatment and during the enlargement of flower buds the total content of growth-inhibiting substances was drastically reduced with simultaneous increase in the content of total

growth-promoting substances (by four days after irrigation). Finally on the day of first blossom, the fully opened flowers contained only growth promoters without any inhibitors of growth (Table 1). Thus, these results indicate that after the plants were irrigated with sufficient water, the shift in the changes of total growth-substance content towards more promoters and finally the complete disappearance of inhibitors appear to have played a beneficial role in the resumption of flower bud enlargement and opening of flower buds into flowers. These changes in mature flower buds might have been induced by endogenous total hormonal balance comprising of total content of growth regulatory substances, but not by any one single endogenous growth hormone. Even here, the changes in the balance of total growth-substance content (promoters and inhibitors) occurred only after the supply of sufficient water to the plants.

The role of endogenous growth regulatory substances on flowering mechanism in perennial woody plants and in other plants in general has been documented in detail (28, 29, 21, 24). It is extremely difficult to decide whether or not a particular endogenous hormone influences a given physiological process like flowering; rather its control is, perhaps, best enunciated by "hormonal balance" with a combination of all the growth regulatory substances in the plants. This point has to be considered in view of the fact that the growth inhibitory effects of certain phenolic fractions and abscisic acid possess some common features, and like-wise between different growth-promoting substances (23). The above facts points out for a cautious approach while explaining the role of a specific endogenous growth hormone in a complex reproductive process like flowering of coffee.

#### Summary

The progressive changes in the content of growth-promoting and growth-inhibiting substances in acid, neutral and aqueous fractions of mature flower buds (before sprinkler irrigation), during their renewed growth (after water treatment) and in fully opened flowers were studied using 11 year old *Coffea arabica* L. cv 'S 795' plants growing in field. The physiological role of these growth-substance contents (promoters and inhibitors) and their balance (total content of three fractions) during the flower bud enlargement and blossom is discussed in the light of existing knowledge on the influence of specific endogenous growth hormones as well as their balance in flowering mechanism of coffee plants.

#### Acknowledgements

The authors are very grateful to Dr. G. I. D'Souza, Director of Research, for constant encouragement and valuable discussions on the studies. They also immensely thank Dr. P. G. Sylvain, Horticulturist Emeritus, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica and Dr. M. Cannell, Institute of Terrestrial Ecology, Penicuik, Midlothian, U.K., for critically reading the manuscript and valuable comments.

## Literature cited

1. ALVIM, P de I. Moisture stress as a requirement for flowering of coffee. *Science* 132:354. 1960
2. ANNUAL DETAILED Technical Report 24 Coffee Board Research Department, India. 1970-71.
3. ANNUAL DETAILED Technical Report 25 Coffee Board Research Department, India. 1971-72.
4. ANNUAL DETAILED Technical Report 26 Coffee Board Research Department, India. 1972-73.
5. BROWNING, G. The hormonal regulation of flowering and cropping in *Coffea arabica* L. Ph.D. Thesis, University of Bristol. 1971 (Cited by BROWNING, G. Flower bud dormancy in *Coffea arabica* L. I. Studies of gibberellin in flower buds and xylem sap and of abscisic acid in flower buds in relation to dormancy release. *Journal of Horticultural Science* 48:29-41. 1973)
6. ———. Flower bud dormancy in *Coffea arabica* L. I. Studies of gibberellin in flower buds and xylem sap and of abscisic acid in flower buds in relation to dormancy release. *Journal of Horticultural Science* 48:29-41. 1973.
7. ———. Flower bud dormancy in *Coffea arabica* L. II. Relation of cytokinins in xylem sap and flower buds to dormancy-release. *Journal of Horticultural Science* 48:297-310. 1973.
8. CANNELL, M. G. R. Photoperiodic response of mature trees of arabica coffee. *Turrialba* 22:198-206. 1972.
9. COSTER, C. Periodische Bluteerscheinungen in den Tropen. *Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg* 35:125-162. 1926.
10. DAS, V. S. R. *et al.* Rice coleoptile straight growth test for auxin bioassay. *Current Science* 35:50. 1966.
11. FRANCO, C. M. Fotoperiodismo em cafeeiro (*Coffea arabica* L.). *Revista do Instituto do Cafe (S. Paulo)* 15:1586-1592. 1940.
12. ———. Curso internacional de fisiologia vegetal. Piracicaba, Brasil. 1962.
13. GOPAL, N. H. Some aspects of hormonal balance in coffee. *Indian Coffee* 38:168-175. 1974.
14. ——— and VASUDEVA, N. Physiological studies on flowering in arabica coffee under South Indian conditions. I. Growth of flower buds and flowering. *Turrialba* 23:146-153. 1973.
15. ——— and VISHWESHWARA, S. Flowering of coffee under South Indian conditions. *Indian Coffee* 35:142-143, 154. 1971.
16. ——— *et al.* Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. VIII. Number of flower buds in relation to wood starch of cropping branches. *Turrialba* 1976 (Under publication).
17. ——— *et al.* Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. III. Flowering in relation to foliage and wood starch. *Turrialba* 25:239-242. 1975.
18. GOPAL, N. H. *et al.* Soil-moisture stress to the point of leaf wilting is not necessarily a pre-requisite for flowering of arabica coffee. *Science* 188. 1976 (Under publication).
19. ——— *et al.* Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. II. Changes in water content, growth rate, respiration and carbohydrate metabolism of flower buds during bud enlargement and anthesis. *Turrialba* 25:29-36. 1975.
20. ——— *et al.* Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. IV. Some physical properties and chromatographic assay of a gum-like substance exuded by flower buds. *Turrialba* 25:110-113. 1975.
21. HILLMAN, W. S. The physiology of flowering. New York, Holt, Rinehart and Winston, 1963. 164 p.
22. JANARDHAN, K. V. *et al.* Carbohydrate reserves in relation to vegetative growth, flower bud formation and crop levels in arabica coffee. *Indian Coffee* 35:145-148. 1971.
23. KEFELI, V. I. and KADYROV, C. SH. Natural growth inhibitors, their chemical and physiological properties. *Annual Review of Plant Physiology* 22:185-196. 1971.
24. LEOFOLD, A. C. Plant growth and development. New York, McGraw-Hill, 1964. 466 p.
25. MES, M. G. Studies on the flowering of *Coffea arabica* L. I. The influence of temperature on the initiation and growth of coffee flower buds. *Portugaliae Acta Biologica (A)* 4:328-341. 1956-57.
26. NEWTON, Jr., O. A. A preliminary study of the growth and flower habits of *Coffea arabica* L. Unpublished report. Inter-American Institute of Agricultural Sciences (Costa Rica). 1952. 37 p.
27. PIRINGER, A. A. and BORTHWICK, H. A. Photoperiodic responses of coffee. *Turrialba* 5:72-77. 1955.
28. PRIESTLEY, C. A. Carbohydrate resources within the perennial plant. Technical Communication No. 27. Farham Royal, Commonwealth Agricultural Bureaux, 1962. 116 p.
29. SALISBURY, F. B. The flowering process. Oxford, Pergamon, 1963. 234 p.
30. THURMAN, D. A. and STREEI, H. E. The auxin activity extractable from excised tomato roots by cold 80 per cent methanol. *Journal of Experimental Botany* 11:188-197. 1960.
31. VASUDEVA, N. and GOPAL, N. H. Studies on leaf growth. V. The life span of coffee leaves in South India. *Indian Coffee* 39:171-174. 1975.
32. VILLIERS, T. A. and WAREING, P. F. The growth-substance content of dormant fruits of *Fraxinus excelsior* L. *Journal of Experimental Botany* 16:533-544. 1965.
33. WENT, F. W. Responses of trees and shrubs. In *The experimental control of plant growth*. Waltham. *Chronica Botanica*, 1957. pp. 164-168.

# Análisis de 12 plantaciones de *Toona ciliata* en Turrialba, Costa Rica\*

—AUGUSTO OTAROLA\*\*, JACOB L. WHITMORE\*\*, RODOLFO SALAZAR\*\*\*

## ABSTRACT

*Twelve plantations of Toona ciliata, ranging from two to seven years of age, were studied in an effort to re-evaluate the potential of this species for industrial forest tree plantations in Turrialba, Costa Rica. Branching, wood quality, coppicing, site sensitivity and growth were the principal aspects studied.*

*The conclusions reached indicate that, with certain reservations, Toona ciliata var. australis could become an important exotic cabinet wood species for a plantation program in Turrialba and similar areas. The growth rate is excellent on optimum sites, at least through the fourth year. Toona is not too site specific, although site quality certainly affects growth. The occurrence and effect of branches can be controlled silviculturally. Phytosanitary problems are not yet an important factor in Turrialba. Thinning results in fast-growing well-formed coppice shoots. The wood of fast-grown stems seven years old or less is of very light density, but wood of older stems, it is speculated, would perhaps be of satisfactory quality. — The authors.*

## Introducción

**D**URANTE los últimos diez años se ha puesto mucho interés en *Toona ciliata* M. Roem, para plantaciones forestales en América Tropical y Subtropical y otros lugares donde esta especie no es nativa (1, 10). Esto se debe principalmente a:

1. Problemas silviculturales con la plantación de *Cedrela* spp.,
2. Problemas entomológicos causados por el barrenador *Hypsipyla grandella* Zeller, que afecta muchas especies americanas de la familia Meliaceae, incluyendo *Cedrela* spp.,

3. La supuesta semejanza entre *Toona* y *Cedrela* en calidad de madera, por ejemplo, debido a parentesco muy cercano (*Toona* antes fue clasificada taxonómicamente como parte del género *Cedrela*),
4. El éxito de *Toona ciliata* por su rápido crecimiento y resistencia al barrenador.

Se sabe que *Toona ciliata* tiene varias ventajas. Crece muy rápidamente bajo condiciones óptimas. No es tan exigente en cuanto a sitio como *Cedrela odorata* L. Puede crecer con mucha rapidez aún bajo fuerte sombra, aunque el tallo se tuerce buscando la luz que deja pasar la copa de los árboles. Entonces serviría muy bien para plantaciones de enriquecimiento en bosques donde la copa de los árboles deja pasar los rayos solares (3, 15).

Se sabe que *T. ciliata* tiene muy pocos problemas fitosanitarios en Turrialba hasta ahora, y que es tóxico al barrenador *Hypsipyla grandella* (6, 7). Sin embargo, aunque no sufre una de las consecuencias del ataque, que es la ramificación en la copa en árboles jóvenes, adolece de la presencia de muchas ramas. Plantaciones de 2-7 años de edad en Turrialba, y de 5-8 en Hawaii

\* Recibido para la publicación el 6 de octubre de 1975

\*\* Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Dirección actual del Ing. Otárola: Jefe Programa Forestal de Cajamarca. Dirección General Forestal y de Fauna Lima, Perú.

\*\*\* Co-Director, Proyecto de FAO Diversificación Agrícola Turrialba, Costa Rica

presentan ramas a lo largo de los tallos aún sin ser atacadas, lo que no ocurre con *Cedrela* sin ataque. Hay conflictos de opinión sobre la necesidad de poda (3, 11, 14)

Otros problemas con insectos y enfermedades se han encontrado (4, 13, 15), pero son aparentemente de poca importancia en Turrialba hasta ahora.

También hay conflictos de opinión sobre la adaptabilidad, o plasticidad de la especie. Un informe (8) indicó que *T. ciliata* crece bien sobre "una gran variedad de sitios". Pero, Párraga (11) encontró un crecimiento pobre en las colinas y mejor en las partes planas. La especie aparentemente requiere suelos fértiles y bien drenados, de preferencia en las bajuras. Se adapta bien a suelos calcáreos y no tolera la presencia de arcilla compactada o arena de poca fertilidad (3).

Walters y Wick (14) informaron sobre un aspecto muy positivo de *Toona* y es su tendencia a rebrotar al ser cortada. Estos rebrotes son vigorosos y rectos en plantaciones hawaianas.

En cuanto a calidad de madera, hay poca información, especialmente sobre árboles que han crecido muy rápidamente. Record y Hess (12) consideraban las maderas de *Cedrela* y *Toona* sin diferencias importantes, o sea iguales en color, olor, resistencia a insectos y hongos, anatomía y utilidad. Quiere decir que *T. ciliata* tiene una calidad de madera muy alta. Pero se supone que esta conclusión estuvo basada en muestras de maderas de bosque natural. Hace falta demostrar que las plantaciones de muy rápido crecimiento arrojen también madera de calidad deseada.

Además, las conclusiones de los cuatro informes principales sobre *T. ciliata* en la región de Turrialba (4, 5, 8, 11) fueron basados en el análisis de plantaciones muy jóvenes (menos de 2 años). Es necesario pues, examinar nuevamente el comportamiento de *T. ciliata* en Turrialba, usando árboles de más edad.

El propósito de este estudio es re-evaluar la importancia de *Toona ciliata* como especie forestal para plantación en zonas húmedas bajas tropicales como Turrialba, y resolver en lo posible algunas dudas o preguntas que existen. Específicamente:

1. ¿Qué importancia tiene la ramificación en *Toona ciliata*?
2. ¿Qué peso específico tiene la madera en árboles de esta especie de crecimiento muy rápido?
3. ¿Sobre cuáles sitios puede crecer *T. ciliata* con buen comportamiento?
4. ¿Con qué rapidez crecen los rebrotes de *T. ciliata*?
5. Dadas las ventajas y desventajas, ¿qué futuro tiene esta especie para plantaciones en zonas semejantes a la región de Turrialba?

#### Métodos

Durante los últimos 8 años, *Toona ciliata* ha sido sembrada en varios lotes experimentales a escala piloto,

en el Cantón de Turrialba\*. Antes de 1967 esta especie no fue sembrada en la región de estudio (7). Para evaluar la potencialidad de esta especie se analizaron, en enero y febrero de 1975, doce plantaciones que representan una variedad de sitios. Las mejores plantaciones de esta especie en Turrialba están incluidas en estas doce, pero también por lo menos cuatro de las doce son de crecimiento pobre. Las doce incluyen 1 de dos años, 7 de cuatro años, y 4 de siete años de edad, haciendo un total de 540 árboles. La razón principal de escoger estas 12 plantaciones fue la de disponibilidad de datos: cada una tiene un registro completo de fecha de siembra, variedad y tratamientos.

Las tres plantaciones de Florencia Sur de 4 años de edad son las únicas de *T. ciliata* var. *ciliata*. Representan tres maneras distintas de preparar el sitio anterior a la siembra: quemada (quemar la vegetación), franjas (rozar líneas para sembrar dentro de ellas) y ruedas (rozar solo un pequeño círculo para sembrar un árbol dentro del círculo). Las demás plantaciones estudiadas representan *T. ciliata* var. *australis* (F v M) CDC, sembradas en forma convencional.

Algunas de las plantaciones han sido raleadas. Se sabe que los árboles jóvenes de *T. ciliata* rebrotan muy rápidamente después de ser cortados; el presente informe incluye también datos acerca de rebrotes.

El trabajo de campo ha consistido en mediciones de altura, DAP, número y grosor de ramas y supervivencia. También se trató de evaluar calidad de sitio a través de caracteres físicos del suelo. La calidad de sitio se determinó empleando el penetrómetro, el cual da un estimado cuantitativo de la condición física del suelo.

La calidad de madera de *T. ciliata* var. *australis* se determinó a través del peso específico de seis de los árboles más grandes (3 de cuatro años, 3 de siete años de edad, 3 muestras de cada árbol). La calidad de madera está muy relacionada con el peso específico, el cual se determinó con un barrenó y el peso seco/volumen verde. La comparación se hizo con el peso específico de *Cedrela odorata* y con resultados del Laboratorio de Maderas.

La medida del número de ramas se estratificó entre los primeros tres metros a partir del nivel del suelo y los siguientes tres metros del tallo. Los datos sobre DAP y ramas no fueron medidos en la plantación de San Juan Sur, pues su corta edad (2 años) imposibilita cuantificarla. Es de anotar que en la plantación de San Juan Sur existe una gran diferencia entre los árboles sembrados en la colina, y aquéllos que fueron sembrados en la parte baja. Para nuestro estudio sólo se midieron los árboles de la parte baja: los de la colina crecieron muy poco, razón por la cual no se hicieron mediciones.

#### Resultados y discusión

En plantaciones de 7 años de edad, el promedio más bajo de altura fue de 9,65 m (Puente Cajón). El crecimiento medio anual de altura se estima como 1,39 m/

\* Aproximadamente 600 m de altitud, 2600 mm de lluvia anual y 22°C de temperatura; bosque muy húmedo premontano según Holdridge.



año. Puente Cajón tiene condiciones de drenaje imperfecto que pueden ser la causa de este crecimiento lento. El promedio más alto fue de 14,24 m (Florencia Sur), un incremento medio anual de 2,03 m/año, valor que como se aprecia es considerablemente superior al anterior sitio (Cuadro 1).

En cuanto a DAP, el estimado más bajo fue de 12,45 cm que representa un crecimiento medio anual de 1,78 cm/año y pertenece al rodal de la localidad de Atirro. El promedio más alto se ha conseguido en la parcela de Florencia Sur con un valor de 15,34 cm. Esto representa un incremento medio anual de 2,19 cm/año, valor que definitivamente es mejor que la plantación de Atirro, demostrando con ello un buen desarrollo inicial de su diámetro (Cuadro 1).

En general la evolución de las parcelas estudiadas en cuanto a diámetro y altura es muy variable, encontrándose desde lotes con desarrollo poco deseable hasta lotes con desarrollo satisfactorio para los 7 años de edad.

Las plantaciones de 4 años de edad también muestran gran variabilidad en altura y DAP, incluyendo las mejores plantaciones según el análisis. El valor promedio de altura más bajo ha correspondido a la localidad de Florencia Sur, en donde la parcela fue establecida bajo el sistema de preparación del terreno con "quemada"

y es de 6,72 m de altura para los 4 años de edad, que representa una tasa de crecimiento de 1,68 m/año. En cambio el promedio más elevado se ha conseguido en el lote de la localidad de Oriente con 15,14 m que representa un incremento medio anual de 3,29 m/año, como se aprecia, es vigoroso y superior a las demás parcelas estudiadas (Cuadro 1).

El diámetro promedio más bajo fue de 7,41 cm (1,86 cm/año) y corresponde a la parcela de Florencia Sur, sembrada bajo el sistema de "ruedas". El promedio diamétrico más elevado se ha juzgado la del vivero de Diversificación Agrícola con 26,5 cm, que representa un crecimiento medio anual de 5,86 a 7,41 cm/año, valor que está significativamente por encima de lo que se esperaba. Parece ser que este desarrollo vigoroso ha tenido relación con el raleo intensivo y con el excelente suelo del rodal (Cuadro 1).

Estratificando por edad y variedad (Cuadro 2), estos datos se ven más claramente. Entre las plantaciones de 4 años de edad, las de *Toona ciliata* var. *ciliata* son las peores. Esto indica una posible mala adaptabilidad de esta variedad, aunque no es justa la comparación por la variación del factor sitio, y por la falta de una prueba replicada con las dos variedades como tratamientos.

Cuadro 1.—Características del crecimiento de *Toona ciliata* en parcelas de ensayo en la región de Turrialba, Costa Rica. Promedio y error estándar de la media de algunos estimados de la población entera. Medidos en enero y febrero de 1975.

Sitio	Variedad	Edad (años)	Altura (m)	DAP (cm)	Nº Ramas* (0-3 m)	Nº Ramas** (3-6 m)	Grosor ramas (cm)	Nº árboles
Atirro	<i>australis</i>	7	11,02 ± 0,38	12,45 ± 0,56	4,20 ± 0,86	4,35 ± 0,33	2,14 ± 0,09	68
Atirro (1)	<i>australis</i>	4	10,89 ± 0,22	13,30 ± 0,35	2,00 ± 1,00	5,86 ± 0,58	2,17 ± 0,10	50
Atirro (3)	<i>australis</i>	4	9,29 ± 0,32	9,34 ± 0,32	2,94 ± 0,50	5,61 ± 0,43	2,22 ± 0,09	50
Bajo Reventazón	<i>australis</i>	7	12,91 ± 1,26	12,50 ± 1,33	5,66 ± 2,90	8,50 ± 1,45	2,16 ± 0,30	6
Florencia Sur (Franjas)	<i>ciliata</i>	4	7,86 ± 0,46	7,69 ± 0,54	9,72 ± 0,88	9,33 ± 0,74	1,86 ± 0,09	36
Florencia Sur (Quemada)	<i>ciliata</i>	4	6,72 ± 0,29	9,66 ± 0,44	7,67 ± 0,72	10,43 ± 0,64	2,71 ± 0,10	58
Florencia Sur (Ruedas)	<i>ciliata</i>	4	6,98 ± 0,41	7,41 ± 0,49	8,54 ± 0,98	6,42 ± 0,11	2,24 ± 0,13	39
Florencia Sur	<i>australis</i>	7	14,24 ± 0,49	15,34 ± 0,85	5,00 ± 0,55	3,76 ± 0,35	3,25 ± 0,26	43
Oriente	<i>australis</i>	4*	15,14 ± 0,47	19,83 ± 0,69	6,73 ± 0,71	6,95 ± 0,56	3,66 ± 0,14	48
Puente Cajón	<i>australis</i>	7	9,65 ± 0,25	13,49 ± 0,46	2,11 ± 0,38	6,34 ± 0,66	2,64 ± 0,14	60
San Juan Sur	<i>australis</i>	2	2,76 ± 0,49	—	—	—	—	72
Vivero Diversificación	<i>australis</i>	4	11,85 ± 0,53	26,55 ± 1,37	2,42 ± 0,68	10,80 ± 0,85	3,25 ± 0,30	10

\* 4,6 años

\*\* Promedio de árboles con ramas: en los once sitios con ramas medidas, sólo 5 por ciento no tenían ramas en los primeros seis metros del tallo.

Cuadro 2—Resumen de los doce sitios por variedad y edad de *Toona ciliata*.

Variedad	Edad (años)	Promedio altura (m)	Promedio DAP (cm)	Nº de árboles
<i>australis</i> (1 sitio)	2	2,76	—	72
<i>australis</i> (4 sitios)	4	11,74	14,87	158
<i>ciliata</i> (3 sitios)	4	7,10	8,17	133
<i>australis</i> (4 sitios)	7	11,40	13,51	177

Es de gran interés notar que algunas de las plantaciones de 4 años de edad son mayores en altura y DAP que las de 7 años. Se encontró que los árboles más altos corresponden al rodal de Oriente, y los de mayor DAP son los del vivero de Diversificación Agrícola, dos de las plantaciones de 4 años. ¿Podría esto indicar que después de 4 ó 5 años *Toona ciliata* var. *australis* crece más lentamente? Es probable que el sitio sea el factor principal. La falta de datos de mediciones anuales y la variación del factor sitio, no nos permite un conocimiento cabal de nuestras apreciaciones. Es importante continuar con la observación de estas doce plantaciones con mediciones anuales durante los próximos 3 años para poder contestar mejor esta pregunta. Por el momento, se puede concluir que el crecimiento sobre buenos sitios es satisfactorio por lo menos hasta los 4 primeros años.

El número, grosor y persistencia de ramas parece ser un factor importante que afectaría la calidad de los productos. La presencia de ramas en los primeros 3 m del tallo (Cuadro 1) en árboles hasta 20 m ó más de altura, indica una falta de poda natural y la necesidad de poda artificial temprana (Fig 1). Generalmente, el tallo principal se mantiene recto a pesar de esta ramificación.

No se observó ningún ataque por insectos u hongos de importancia, con la excepción de un tipo de muerte regresiva ("dieback") en los peores sitios (Fig 2).

Las plantaciones que fueron raleadas mostraron una tendencia vigorosa a rebrotar. La edad promedio de altura y DAP de los rebrotes de tres de estas 12 plantaciones se presentan en el Cuadro 3. Diversificación Agrícola de Turrialba ha cosechado rebrotes de 18 meses de edad con la finalidad de usar como puntales para el cultivo de banano, aunque la madera sea muy débil para este uso. También se encontró que al cortar los rebrotes, segundos rebrotes crecen vigorosamente (Fig 3), aunque muchos de ellos no rebrotan por segunda vez (Cuadro 3).

El peso específico de algunos de los mejores (más grandes) árboles de estas 12 plantaciones resultó ser entre 0,24 - 0,34 (4 años) y 0,32 - 0,37 (7 años). Un análisis más detallado en el Laboratorio de Maderas del

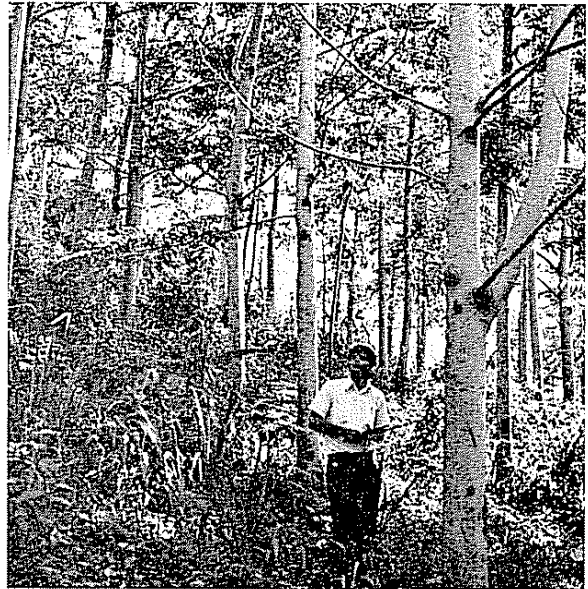


Fig 1—Rodal de *T. ciliata* var. *australis* de 4 años de edad, en la localidad de Oriente. Estos árboles, muy bien establecidos sobre un sitio óptimo, debieron haber sido podados durante el segundo año.

CATIE dio 0,261 como el peso específico de árboles de 4 años del vivero de Diversificación Agrícola. *Cedrela odorata* de bosque nativo tiene un peso específico de más o menos 0,45 (9). El cambio entre 4 y 7 años es prometedor: es probable que una rotación de 15 - 20



Fig 2—Rodal de *T. ciliata* var. *australis* de 7 años de edad en la localidad de Puente Cajón, en suelo con drenaje imperfecto. Los árboles crecieron bien en los 3 a 4 primeros años, pero actualmente sufren por la muerte regresiva.

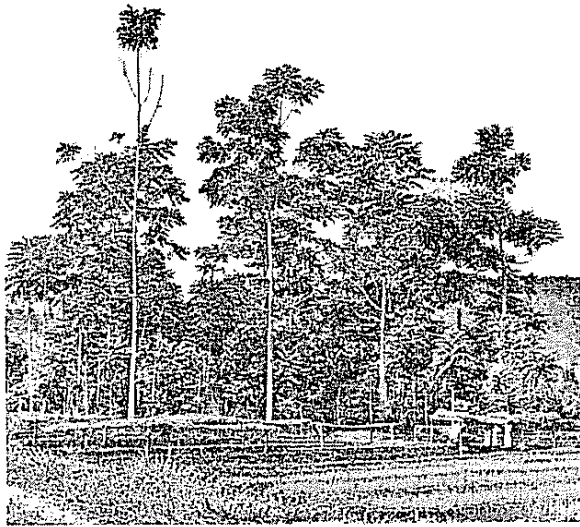


Fig 3.—Rodal de *T. ciliata* var. *australis* de 4 años de edad en el vivero de Diversificación Agrícola. El suelo es de excelente calidad. El rodal ha sido raleado dos veces, con rebrotes vigorosos como resultado.

años daría madera más cerca al 0,15 lo cual sería muy satisfactorio. *Toona* de 22 años de edad en Hawaii tuvo un peso específico de 0,35 - 0,40 (16).

De los datos se ve que *T. ciliata* varía mucho de un sitio a otro, pero por lo general la comparación es favorable frente a datos de Hawaii y de Africa (Cuadro 4). Esta variación podría ser debida al factor suelo. Pero el análisis de factores físicos de los suelos en cada sitio con el penetrómetro dio resultados inconclusos en cuanto a variaciones entre sitios en Turrialba.

Cuadro 3.—Edad y promedio de altura de rebrotes de *Toona ciliata* var. *australis* en Puente Cajón (suelo pobre) y en el vivero de Diversificación Agrícola (suelo óptimo)

Sitio	Edad*	Promedio altura (m)	% Árboles cortados que no rebrotaron
Puente Cajón	57	1,34	0,0
Vivero de Diversificación Agrícola			
(Primeros rebrotes)	18	6,09	1,13
(Segundos rebrotes)	9	3,24	15,71
Atirro	17	6,66	0,0

\* Desde el raleo: en meses.

Cuadro 4.—Crecimiento en altura (m) y diámetro (cm) en Turrialba comparado con Hawaii y Africa (2, 3).

Sitio	Años de edad	Altura	DAP	Nº de árboles	
Africa*	2	3	4	—	
	3	5	7	—	
	6	10	17	—	
	9	14	25	—	
	15	22	40	—	
Hawaii**	1	1	—	411	
	3	4	—	302	
	4	5	—	307	
Turrialba**					
	San Juan Sur	2	3	—	72
	Oriente	4	15	20	18
	Atirro	4	11	13	50
	Florencia Sur	7	14	15	13
	Bajo Reventazón	7	13	12	6

\* *Toona ciliata*, edad desde la germinación, comportamiento esperado bajo condiciones óptimas

\*\* *Toona ciliata* var. *australis*, edad desde la plantación en el campo, comportamiento actual

### Conclusiones

Sobre sitios óptimos, *T. ciliata* var. *australis* crece con excelente rapidez y forma; su desventaja parece ser la tendencia de ramificación. Las ramas no afectan la rectitud del tallo principal, y pueden ser eliminadas con poda artificial. Esta variedad tiene una plasticidad amplia, aparentemente más que *T. ciliata* var. *ciliata* y mucho más que *Cedrela odorata*, en cuanto a sensibilidad al factor sitio. Sobre sitios medianos, el crecimiento de la variedad *australis* es aceptable. En sitios pobres de nutrimentos o drenaje, el árbol no crece, o tiene problemas de muerte regresiva después de un buen crecimiento inicial.

Se determinó que las plantaciones de 7 años no superan en tamaño a las de 4; en consecuencia es preciso examinar la causa. No se sabe con seguridad si fue debido al factor sitio (el más probable) o a una baja tasa de crecimiento después del cuarto año causado por factores también desconocidos.

Hasta ahora no se han detectado problemas fitosanitarios con *Toona* en la región de Turrialba, excepto la muerte regresiva para los peores sitios.

Al ser raleado un rodal, los árboles restantes crecen con más vigor y los cortados rebrotan fuertemente. Los rebrotes crecen muy bien, aún en la sombra de árboles más grandes mientras haya luz vertical.

La madera de árboles de 4 y 7 años, bajo condiciones óptimas de rápido crecimiento, es muy liviana. Para la mayoría de usos, *Toona* no debe ser cosechada antes de los 15 o quizás 20 años.

El factor sitio merece más estudio. Por ahora nos limitamos a concluir que un suelo rico y bien drenado puede ser el sitio óptimo para *Toona ciliata* var. *australis* aunque se trata de una especie plástica, no muy exigente.

Con estos resultados, la variedad *australis* debe continuar en la lista de especies prometedoras para la región de Turrialba y áreas de condiciones semejantes. Sin embargo, no se puede recomendar plantación en gran escala sin más investigaciones.

#### Literatura citada

- 1 CARLSON, N. K. Honaunau forest. *American Forests* 66(4):16-19, 53, 55, 58. 1960.
- 2 ———, y BRYAN, L. W. The Honaunau forest: an appraisal after seven years of planting. *Journal of Forestry* 61(9):543-647. 1963.
- 3 *Cedrela odorata* Linné et *Toona ciliata* M. Roem. Caractères sylvicoles et méthodes de plantation. *Bois et Forêts des Tropiques*. N° 81:29-34. 1962.
- 4 GRIJPMAN, P. y RAMALHO, R. *Toona* spp., posibles alternativas para el problema del barrenador *Hypsipyla grandella* de las Meliaceas en América Latina. *Turrialba* 19(4):531-547. 1969.
- 5 ———. Immunity of *Toona ciliata* M. Roem. var. *australis* (F. v. M.) CDC and *Khaya ivorensis* A. Chev. to attacks of *Hypsipyla grandella* (Zeller) in Turrialba, Costa Rica. *Turrialba* 20(1):85-93. 1970.
- 6 GRIJPMAN, P. y GARA, R. I. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). II. Host preference of the larva. *Turrialba* 20(2):241-247. 1970.
- 7 ———, y ROBERTS, S. C. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lep. Pyralidae). XXVII. Biological and chemical screening for the basis of resistance of *Toona ciliata* M. J. Roem. var. *australis*. *Turrialba* 25(2):152-159. 1975.
- 8 INSTITUTO INTERAMERICANO DE CIENCIAS AGRICOLAS. Un proyecto de plantaciones industriales para Costa Rica. Turrialba, Costa Rica, IICA. 1970. 24 p. (Mimeografiado).
- 9 LONGWOOD, F. R. Puerto Rico woods: their machining, seasoning and related characteristics. USDA-Forest Service. *Agricultural Handbook* N° 205. 1961. 98 p.
- 10 MANGIERI, H. R. Una nueva especie forestal de gran valor maderero para Argentina: *Toona ciliata* var. *australis*. *Revista Forestal Argentina* 16(3-4):130-132. 1972.
- 11 PARRAGA ALIAGA, R. Costo de establecimiento de plantaciones con *Toona ciliata* M. Roem. en Turrialba, bajo tres métodos de preparación de sitio. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1972. 65 p.
- 12 RECORD, S. J. and HESS, R. W. *Timbers of the new world*. Yale University Press, 1947. p. 640.
- 13 SEGURA, C. BAZAN DE. Diseases of forest nurseries and plantations of Turrialba. Report to the Food and Agricultural Organization, Rome. 11 p. + appendices. s.d.
- 14 WALTERS, G. A. y WICK, H. L. Coppicing to convert cull Australian toon, tropical ash, to acceptable trees. USDA-Forest Service Research Note PSW-278. 1973.
- 15 WHITMORE, J. I. y MEDINA GAUD, S. White peach scale attack on toon in Puerto Rico. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico* 58(2):276-278. 1974.
- 16 YOUNGS, R. L. Physical, mechanical and other properties of five Hawaiian woods. USDA-Forest Service FPL Report N° 2191, 1960. 19 p. + 6 tables.

# Influence of pre-harvest sprays of ethrel on ripening and abscission of coffee berries\* ————— TOLA OYEBADE\*\*

## COMPENDIO

*Se aplicó ethrel (ácido fosfónico 2-cloroetano) como aspersión pre-cosecha a cerezas verdes maduras de Coffea canephora 'Robusta' and Coffea arabica cv 'Variegata' que crecía en un campo en la Estación Experimental de Gambari, Idi-Ayume, Ibadán, en concentraciones que variaban de 50 a 500 ppm, con el fin de investigar el efecto del producto químico sobre la maduración y abscisión de las cerezas. Con las tasas de 100 ppm y más altas, el producto aceleró el comienzo de una maduración uniforme de las cerezas en ambas especies. En el caso de C. arabica, la mayor maduración ocurrió 6 a 13 días después de la aplicación en comparación con 9 a 17 días en el caso de C. canephora.*

*Con 200 ppm y más altas dosis, el ethrel indujo grados variables de aflojamiento de frutos y a menudo, su caída. Las concentraciones más altas causaron caída de cerezas más temprana y rápida. Parece que las cerezas tienen que ser de cierta edad fisiológica antes de que puedan ser inducidas a madurar o caer. — La autora*

### Introduction

**I**N Nigeria the coffee plant normally flowers in two or three flushes and this results in berries of varied ages which ripen unevenly. Natural ripening of coffee berries usually occurs during the dry season and spreads over a period of about ten weeks beginning from October (9). Coffee harvesting therefore, is not a simple once-over procedure as the case in most other crops. As a result of this, many farmers pick berries at varied stages of ripening at harvest time. Some even deliberately pick green berries in order to harvest them before they are attacked by berry borers. On farms where more than one variety of coffee is grown there is the tendency of mixing berries together. Since all these factors contribute to the production of a poor quality coffee, it is considered that any growth regulator which can bring about uniform ripening of coffee berries may increase the efficiency of hand pick-

ing and thus improve the quality and subsequently, the price of coffee in the world market.

Existing reports have shown that the effect of ethrel (2 chloroethane phosphonic acid) on plants is similar to those produced by ethylene and this has been attributed to the liberation of ethylene gas in vivo by ethrel (3). In fact, the ability of ethrel to stimulate fruit ripening was first reported by Russo *et al.* (12) when they compared banana ripening of ethylene treated fruit with that of ethrel treated fruit. Garrison (7) also reported the stimulation of tomato ripening when ethrel was injected into the fruit and Robinson *et al.* (11) showed that field sprays of ethrel applied two weeks before harvest increased the proportion of ripe fruit. In a preliminary study by Oyebade in 1971 (10), it was discovered that aqueous sprays of ethrel on mature coffee berries four weeks before anticipated harvest induced uniform ripening in *C. canephora* 'Robusta'. Besides stimulating fruit ripening there are reports from other workers that other vital properties of ethrel include abscission promotion of fruits and other appendages. (1, 2, 4, 5, 6, 8); and the effect of ethrel on fruit abscission could be of benefit in regulation of harvest dates of particular cultivars and for mechanical harvesting.

\* Received for publication August 13, 1975

\*\* Cocoa Research Institute of Nigeria, Gambari Experimental Station, P.M.B. 5244, Ibadan, Nigeria

The present study, therefore, was designed to investigate the abscission and fruit-ripening properties of ethrel on mature berries of *C. canephora* 'Robusta' and *C. arabica* cultivar 'Variegata' growing at the Gambari Experimental Station of the Cocoa Research Institute of Nigeria as there are a number of ways in which such an agent might find useful application in coffee cultivation. The Gambari Experimental Station is about 23 kilometres south west of Ibadan, Nigeria; and it is situated between the low land Rain Forest Zone of the Forest Region and the Southern Guinea Zone approximately 600 feet above sea level with an average annual rainfall of about 50 inches. The rainy season usually lasts from April to October with two rainfall maxima in May/June and September/October. There is approximately a four-month dry season of varying intensity lasting from November/December to February/March.

#### Material and methods

During the last week of September 1974, when berries were still green but mature on both *C. canephora* 'Robusta' and *C. arabica*, ethrel at 0, 50, 100, 200, 250, 300 and 500 ppm was applied directly to the berries of some selected laterals until just before the point of runoff. The volume of solution applied usually amounted to between 20-25 ml depending on the number of berries borne by the selected lateral. Spraying was carried out with a 50 ml hand sprayer. A single dose of each of the treatments was applied, except the 50 ppm treatment which was applied on two occasions at intervals of 24 hours to give a double dose. This treatment is henceforth referred to as 50-2 in this paper.

In all, there were eight treatments and the eight treatments were replicated five times for each of the two species of coffee used in this study. Relatively low concentrations of ethrel have been used in this study because preliminary investigations showed that ethrel at 1000 ppm and above is quite toxic to coffee plants in Nigeria.

The number of berries treated per replicate was not uniform but records were taken of the number at the time of ethrel application. After the application of the chemical, periodic observations were made on the berries so as to evaluate the effectiveness of the various concentrations in inducing ripening and abscission of the berries. The number of berries ready for processing were counted after day 6, 9, 13, 17, 24, 30, 43 and 50 of chemical application. All the data collected on ripening and fruit drop were subjected to analysis of variance and differences among means were tested for significance using the *t*-test method.

#### Results and discussion

A single dose of ethrel at 200 ppm and above showed a marked influence on ripening. Within the first six days after chemical application, ripening was visually noticeable in the case of *C. arabica* but this was delayed till about nine days in the case of *C. canephora*. In both species, the percentage ripe berries increased progressively with time as a result of the different treatments, but laterals treated with 300 and 500 ppm ethrel had the highest per cent ripe berries at all times during the experimental period and these were followed by those treated with ethrel at 250, 200, 100, 50-2 and 50 ppm in that order (Fig. 1). Thus ethrel applied at

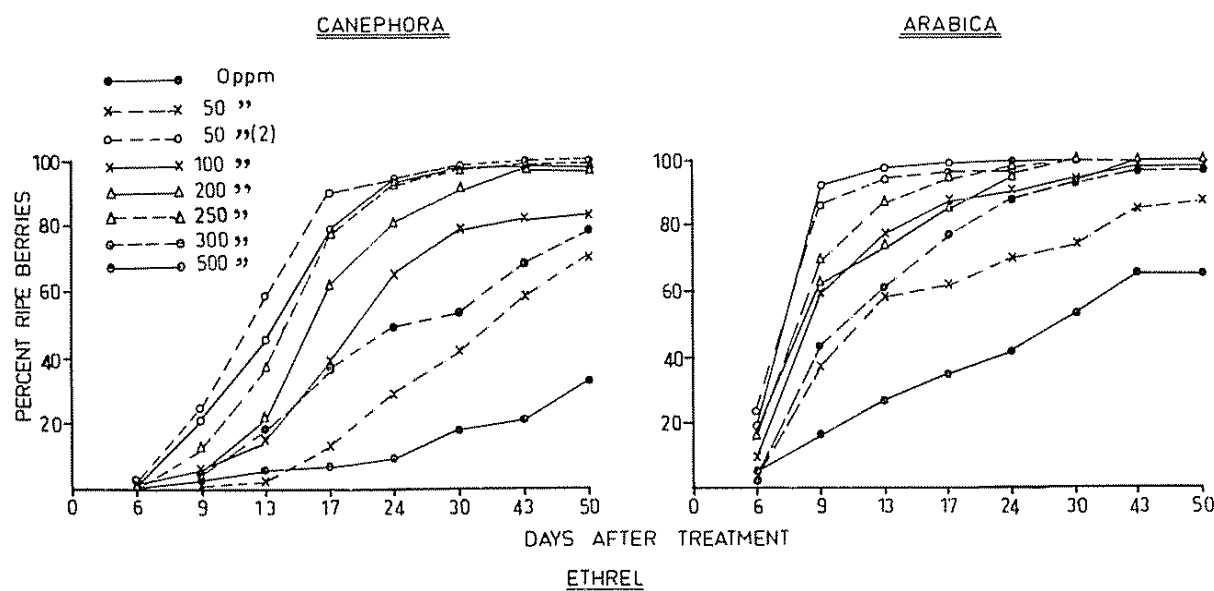


Fig. 1—Effects of different concentrations of ethrel on percentage ripe berries

300 and 500 ppm caused earlier ripening than ethrel applied at 250 ppm and below. Another way of explaining this phenomenon could be that the ability of ethrel to stimulate ripening decreases as the fruits become older, probably as a result of an increase of endogenously produced ethylene in the fruits themselves to a critical level.

Analysis of variance on log percentage ripe berries by the 13th day after spraying showed no significant difference between the control (0 ppm) and 50 ppm but both were, at this stage, significantly different from the other treatments at  $P = 0.05$ . Also, there was no significant difference between those sprayed with a double dose of 50 ppm and a single dose of 100 ppm, but both showed significant differences from berries sprayed with 300 and 500 ppm ( $P = 0.05$ ). The same was also true for the data obtained 17 days after treatment.

It is evident from the results of this study that ethrel at 300 and 500 ppm was more effective in concentrating the ripening period of berries in both species. By the 17th day after treatment, for instance 99.4 per cent of the berries sprayed with 500 ppm ethrel had ripened in the arabica while at the same time, 77.2 per cent of those sprayed with the same ethrel concentration had ripened in the robusta. In the controls, on the other hand, 35.1 per cent ripe berries were recorded for arabica while only 7.6 per cent was recorded for the robusta. This shows clearly how the harvest time of both species had been shifted forward by about three weeks due to single sprays of ethrel at 300 ppm and above. By the time the experiment was terminated 50 days after treatment, 0 ppm was the only treatment significantly different from the others at  $P = 0.05$ . The percentages of ripe berries in the controls were then 65.3 and 32.7 respectively for arabica and robusta (Fig. 1).

Fruit drop after spraying was estimated at the same intervals as fruit ripening and expressed as per cent berry drop (Fig. 2). Ethrel, especially at the higher concentrations increased the fall of berries and this phenomenon became more pronounced with time. By the 13th day after treatment for instance, 9.6 per cent berry drop was induced by 500 ppm ethrel on arabica but this has increased to 50 per cent by the 24th day (Fig. 2A-C). In the case of the robusta sprayed with 500 ppm ethrel, percentage berry drop was 8.04, 13 days after treatment and this rose to 16.8 and 41.2 by the 24th and 30th day after treatment respectively (Fig. 2-A, C and D). It was apparent that ethrel increased berry drop partly by increasing their degree of ripeness because many of the berries which dropped were over-ripe with softer pericarp.

This experiment shows that besides the ability to stimulate the onset of fruit ripening ethrel is also an effective berry abscission agent. The speed of its response to both ripening and abscission may be associated with the high temperatures prevailing in the Western State of Nigeria at the time of this experiment. An agent such as ethrel, might find useful application in coffee cultivation. For instance, if it were possible to shorten the ripening period of coffee which normally spreads over about ten weeks (9), the cost of harvesting could

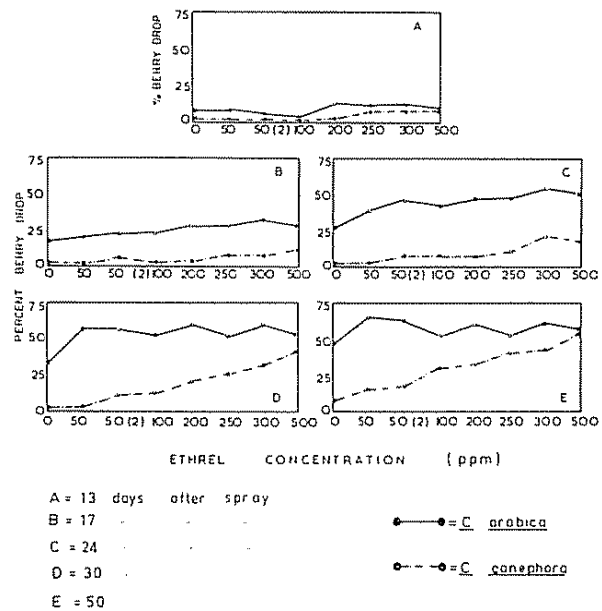


Fig. 2—Effects of eight concentrations of ethrel on the abscission of healthy coffee berries during five periods following treatment

be reduced because there would be fewer peak picking periods and more efficient use could be made of the available labour. Also in large coffee plantations, selective spraying of large blocks can be carried out so that harvest can be programmed to meet labour availability. Moreover, because ethrel is an abscission agent, it might be useful in controlling over-bearing, particularly in the first fruiting year of young trees. With a single fruiting season, the control of some pests and diseases would be easier and less expensive.

The abscission property of ethrel might also be very useful as an aid in the mechanical harvesting of coffee, but further research is still needed on whether the chemical can selectively remove ripe berries or not.

#### Summary

Ethrel (2-chloroethane phosphonic acid) was applied as a pre-harvest spray to mature green berries of *Coffea canephora* 'Robusta' and *Coffea arabica* L. cultivar 'Variegata' growing in the field at the Gambari Experimental Station, Idi-Ayunre, Ibadan, in concentrations varying from 50 to 500 ppm so as to investigate the effect of the chemical on berry ripening and abscission. At rates of 100 ppm and higher, the chemical accelerated the on-set of uniform on-the-tree ripening of berries in both species. In the case of *C. arabica*, greatest ripening occurred 6 to 13 days following application as against the 9 to 17 days in the case of *C. canephora*.

At 200 ppm and above, the chemical induced varying degrees of berry loosening and often, berry drop. The higher concentrations caused earlier and more rapid berry drop. It seems berries had to be of a certain physiological age before they could be induced to ripen or abscise.

*Acknowledgement*

I am thankful to F Adesokan and S Adeleke of Agronomy Division for taking pains to record the observations. The permission of the Director of Cocoa Research Institute of Nigeria, Ibadan to publish the findings is greatly acknowledged.

*Literature cited*

- 1 BROWNING, G. and CANNELL, M. G. R. Use of 2-chloroethane phosphonic acid to promote the abscission and ripening of fruit of *Coffea arabica* L. *Journal of Horticultural Science* 45(3):223-232. 1970.
- 2 BUKOVAC, M. J. *et al*. Chemical promotion of fruit abscission in cherries and plums with special reference to (2-chloroethyl) phosphonic acid. *Journal of American Society for Horticultural Science* 94:226-230. 1969.
- 3 COOKE, A. R. and RANDALL, D. I. Ethrel as ethylene releasing agent for the induction of flowering in pineapple. *Nature* 218:974-975. 1968.
- 4 CUMMINS, J. N. and FIORINO, P. Pre-harvest defoliation of apple nursery stock using ethrel. *Horticultural Science* 4:339-341. 1969.
- 5 DOZIER, W. A. Jr and BARDEN, J. A. Influence of 2-chloroethyl phosphonic acid on growth and abscission of young apple tree leaves. *Journal of American Society for Horticultural Science* 98:239-243. 1973.
- 6 EDGERTON, I. J. and GREENHALGH, W. J. Regulation of growth, flowering and fruit abscission with 2-chloroethane phosphonic acid. *Journal of American Society for Horticultural Science* 94:11-13. 1969.
- 7 GARRISON, S. A. W. Stimulation of tomato ripening by Amchen 66-329. *Horticultural Science* 3(2):122 (Abstract) 1968.
- 8 LOONEY, N. E. and McMECHAN, A. D. The use of (2-chloroethyl) phosphonic acid and succinic acid 2, 2-dimethyl hydrazide to aid mechanical shaking of sour cherries. *Journal of American Society for Horticultural Science* 95:452-455. 1970.
- 9 OYEBADE, I. T. Studies on the pattern of growth and development of *Coffea canephora* (Pierre ex Froehner) fruit in Nigeria. In Press - *Nigerian Journal of Science* 7(2) 1973.
- 10 ———— Effect of pre-harvest sprays of ethrel (2-chloroethane phosphonic acid) on Robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre) berries. *Turrialba* 21(4):442-444. 1971.
- 11 ROBINSON, R. W. *et al*. Chemical promotion of tomato fruit ripening. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 93:823-830. 1968.
- 12 RUSSO, L., DOSTAL, H. C. and LEOPOLD, A. C. Chemical regulation of fruit ripening. *Bioscience* 18: 109. 1968.



# Comunicaciones

## Efecto de urea y de urea-azufre en la producción de banano 'Giant Cavendish' en Guápiles, Costa Rica

**Abstract.** This study was carried out in a banana plantation in the Guapiles area of Costa Rica, where mean annual rainfall is around 3.830 mm and mean annual temperature is about 25.7°C

Plain urea (46 per cent N) and sulphur-coated urea (38.3 per cent N and 14 per cent S) fertilizers were tested at levels of 0, 16, 31, 47, 68, 136, 205, 272, 341 and 409 kg N/ha and applied at intervals of 4, 6, 8, 10, 12 and 14 weeks. Highest yields were obtained at the 47 kg N/ha level applied at 12 weeks interval; however, sulphur-coated urea yielded about 18 per cent higher than regular urea. Furthermore, sulphur-coated urea appeared to overcome sulphur-deficiency in the soil.

### Introducción

Varios autores (11, 12) ponen de manifiesto la importancia de las adiciones nitrogenadas en la producción de banano.

Sin embargo se presenta una notoria divergencia de criterio en cuanto a las fuentes y frecuencias de aplicación lo cual está acorde con las diversas condiciones ecológicas donde están establecidas las plantaciones bananeras.

En los suelos de los trópicos húmedos donde por la alta movilidad del nitrógeno y sus complejos procesos dinámicos (mineralización, desmineralización, fijación, volatilización, lixiviación), la frecuencia de aplicación incide notoriamente en la eficacia del compuesto adicionado al suelo.

Algunos autores (5) han encontrado evidencias en el sentido de que las pérdidas de nitrógeno en el área de Turrialba (Costa Rica) son de consideración (alrededor del 65 por ciento cuando las aplicaciones se restringen a una o dos por año).

Es igualmente posible que, bajo condiciones de alta pluviosidad, la fertilización nitrogenada suministrada al suelo en forma de urea sea lavada en buena parte antes de que haya podido transformarse en formas asimilables por las plantas (19).

La investigación sobre el uso de fertilizantes nitrogenados de lenta liberación en el cultivo del banano fue iniciada por Champion y Pelegrín (3) hace más de veinte años; encontraron que la adición de urea-formaldehído aplicada a razón de 240 kg de N/ha/año, aumentó la producción en un 25 por ciento en comparación con la misma dosis de nitrógeno proveniente de

sulfato de amonio, pero el alto costo relativo de aquel producto fue un limitante para su consumo.

Desde principios de 1960 el Tennessee Valley Authority ha desarrollado una activa investigación sobre la fabricación de urea recubierta con azufre (20).

Las ventajas que traería este tipo de productos (menos aplicaciones, reducción de las pérdidas por lixiviación y escorrentía, reducción del consumo de 'lujo' y disminución de la contaminación del agua) sobrepasarían el costo adicional por unidad de nitrógeno, además de que sería una fuente adicional de azufre (14).

La presente investigación tiene como finalidad determinar los efectos comparativos de las adiciones de urea y urea recubierta con azufre en la producción global (fructificación) de banano en las condiciones de la zona de Guápiles, Costa Rica.

### Materiales y métodos

El experimento se realizó en la plantación bananera 'Tica Frutera', localizada en Guápiles, Costa Rica.

Los suelos utilizados en el experimento fueron descritos en forma general por Godefroy (6) y algunas de sus características se observan en el Cuadro 1.

El clima de la región se caracteriza por altas precipitaciones (el promedio anual es de 3 830 mm) y una temperatura igualmente elevada (el promedio de la temperatura máxima es de 30,7°C y el de la mínima es de 20,7°C).

El grado de lixiviación de estos suelos está dado por las magnitudes del exceso de agua en el suelo; este valor fluctúa, para suelos similares a los utilizados en el estudio, entre 337 y 956 mm, sólo para el lapso comprendido entre la inflorescencia y la cosecha de la fruta (9).

El diseño experimental fue el Guadalupe (17), con un arreglo de campo de parcelas divididas y con tres repeticiones.

El tamaño efectivo de cada repetición fue de 50 m<sup>2</sup>. Como fuentes de nitrógeno se utilizaron urea (46 por ciento N) y urea recubierta con azufre (38.3 por ciento N y 14.0 por ciento S); los niveles de aplicación fueron de 0-16-31-47-68-136-205-273-341 y 409 kg de N/ha.

Los abonamientos a partir del inicio del experimento se efectuaron a intervalos de 0, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 semanas.

Además se efectuaron aplicaciones de fósforo y potasio cada ocho semanas, en dosis de 55 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha/año y 600 kg de K<sub>2</sub>O/ha/año, a partir de superfosfato triple (46 por ciento de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) y muriato de potasio (60 por ciento de K<sub>2</sub>O) respectivamente.

Cuadro 1.—Algunas características del suelo estudiado

Característica	Profundidad 00-30 cm
Textura	Franco
Arcilla	13
Limo	39
Arena	48
Densidad real g/ml	2,10
Densidad aparente g/ml	0,75
Forosidad por ciento	68,7
pH H <sub>2</sub> O	6,0
C.I.C. me/100 g	34,0
Ca intercambiable me/100 g	8,13
Mg intercambiable me/100 g	2,42
K intercambiable me/100 g	1,28
S.B. por ciento	34,8
Carbono por ciento	5,05
Nitrógeno total por ciento	0,475
Fósforo (Olsen) ppm	43,0
Azufre (extraíble) ppm	8,13

En el lote experimental se hicieron las prácticas normales de control de nematodos, de malas hierbas y de hongos e insectos foliares.

Como principales medidas de respuesta se tomaron el total de racimos fructificados por parcela y el número de manos/racimo; los resultados se empezaron a recolectar seis meses después de iniciado el experimento con el fin de obviar (en parte) el efecto de fertilizaciones anteriores.

Además, en un segundo experimento se hicieron determinaciones en suelos y hojas (3<sup>a</sup> al momento de la fructificación).

En los análisis de suelo se determinó el nitrógeno total (2), fósforo disponible (16), azufre extraíble (7); las bases cambiables (4) se determinaron por medio del espectrofotómetro de absorción atómica. En las muestras de plantas se efectuaron las siguientes determinaciones: nitrógeno total (15); fósforo (16); la extracción de azufre se hizo mediante oxidación húmeda (8) y en la determinación se empleó el método de Hoefl *et al.* (7); la extracción de calcio-magnesio y potasio se hizo mediante el método de Jackson (8) y la determinación por medio del espectrofotómetro de absorción atómica.

Con el fin de establecer las relaciones entre las dosis aplicadas, la frecuencia de aplicación y la producción (ya sea de racimos o de manos/racimo) se calcularon ecuaciones de regresión múltiple.

Los resultados fueron analizados en la computadora 1142 del IICA-CATIE, en Turrialba.

## Resultados y discusión

Con el fin de cuantificar la contribución de los parámetros principales (dosis de nitrógeno y frecuencias de aplicación) en el número de plantas fructificadas (racimos) se establecieron las siguientes regresiones múltiples:

$$Y = 3,67265 + 0,012876X_1 - 0,097517X_2 - 0,000005X_1^2 + 0,081202X_2^2 - 0,001811X_1X_2 \quad [1]$$

$$R^2 = 0,741$$

en donde:

$$Y = \text{racimos}/50 \text{ m}^2$$

$$X_1 = \text{Dosis de nitrógeno provenientes de urea (g/50 m}^2\text{/aplicación)}$$

$$X_2 = \text{Frecuencia de aplicación (semanas)}$$

$$Y = 2,60968 + 0,007511X_1 + 0,948405X_2 - 0,000002X_1^2 - 0,059557X_2^2 + 0,000393X_1X_2 \quad [2]$$

$$R^2 = 0,657$$

en donde:

$$Y = \text{racimos}/50 \text{ m}^2$$

$$X_1 = \text{Dosis de nitrógeno proveniente de urea-azufre (g/50 m}^2\text{/aplicación)}$$

$$X_2 = \text{Frecuencia de aplicación (semanas)}$$

$$Y = 10,62625 - 0,0010899X_1 + 0,1135460X_2 + 0,0000006X_1^2 - 0,0062318X_2^2 - 0,0000133X_1X_2 \quad [3]$$

$$R^2 = 0,250$$

en donde:

$$Y = \text{Promedio de manos/racimos}$$

$$X_1 = \text{Dosis de nitrógeno provenientes de urea (g/50 m}^2\text{/aplicación)}$$

$$X_2 = \text{Frecuencia de aplicación (semanas)}$$

$$Y = 9,94760 + 0,003794X_1 + 0,093664X_2 - 0,000001X_1^2 - 0,002397X_2^2 - 0,000281X_1X_2 \quad [4]$$

$$R^2 = 0,763$$

en donde:

$$Y = \text{Promedio de manos/racimos}$$

$$X_1 = \text{Dosis de nitrógeno proveniente de urea-azufre (g/50 m}^2\text{/aplicación)}$$

$$X_2 = \text{Frecuencia de aplicación (semanas)}$$

En la Figura 1 se observan algunas predicciones de la ecuación 1; las aplicaciones de altas dosis de urea una sola vez al inicio tienen efecto favorable en la fructificación, pero cuando estas se repiten con frecuencia la fructificación disminuye notoriamente (nótese las adiciones de 200 y 300 kg/N/ha); esto confirma lo encontrado por Boland (1), la cual demostró que las aplicaciones muy frecuentes de altos niveles de fertilizantes tienen efecto tóxico para el banano; la disminución en la emergencia de racimos con cantidades altas de nitrógeno aplicadas frecuentemente provoca un fuerte desequilibrio en la composición mineral del banano, especialmente entre este elemento y el potasio (11, 12).

La dosis más adecuada parece ser la de 40 kg/ha, con aplicaciones cada 12-14 semanas (o sea alrededor de 4-5 ciclos/año equivalentes a 160-200 kg de nitrógeno/ha/año).

Si bien el ajuste de la ecuación 3 es bajo (no es significativa) se presenta con el objeto de mostrar la poca variación del promedio de manos/racimo en relación con la cantidad o frecuencia de aplicación (Fig. 3); es notorio el hecho de que el nivel que representa un mayor tamaño del racimo es aquel de 50 kg de nitrógeno/ha aplicados cada 14 semanas (o sea alrededor de 200 kg/ha/año).

En la Fig. 2 se observan algunas predicciones de la ecuación 2; se nota que cuanto mayor es la cantidad de urea-azufre aplicada, mayor es el número de plantas fructificadas, obteniéndose mayor producción que en el caso de la urea.

Sin embargo las altas adiciones de urea-azufre disminuyen el tamaño del racimo, como se observa en la Fig. 4; como se anotó anteriormente la aplicación de altos niveles de nitrógeno establece fuertes desbalances en la composición mineral de la planta, provocando antagonismos especialmente con el potasio.

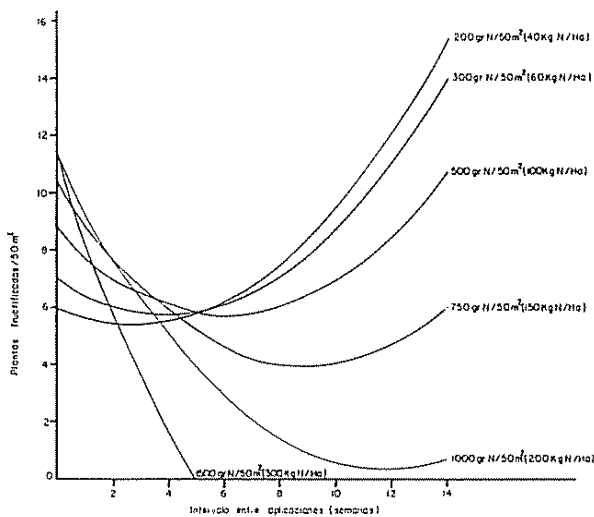


Fig. 2.—Relación entre dosis crecientes de nitrógeno (provenientes de urea) en diferentes frecuencias de aplicación y el número de plantas de banano fructificadas Tica Frutera, Guápiles, Costa Rica

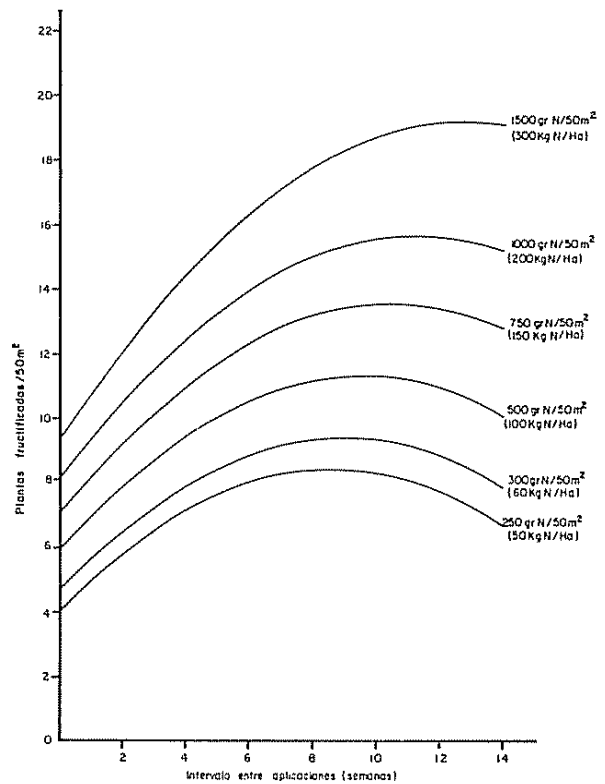


Fig. 1.—Relación entre dosis crecientes de nitrógeno (provenientes de urea-azufre) en diferentes frecuencias de aplicación y el número de plantas de banano fructificadas Tica Frutera, Guápiles, Costa Rica

Debido a que el modelo matemático utilizado representa la tendencia esperada del conjunto de tratamientos (ecuación 2), se observó que algunos resultados no se ajustaban al análisis; entonces se decidió establecer

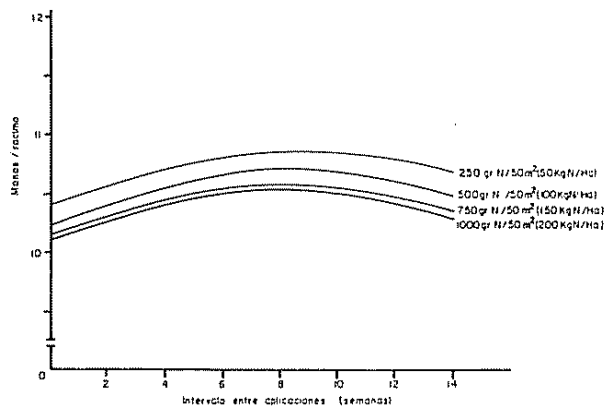


Fig. 3.—Relación entre dosis crecientes de nitrógeno provenientes de urea común en diferentes frecuencias de aplicación y el promedio de manos/racimo. Tica Frutera, Guápiles, Costa Rica

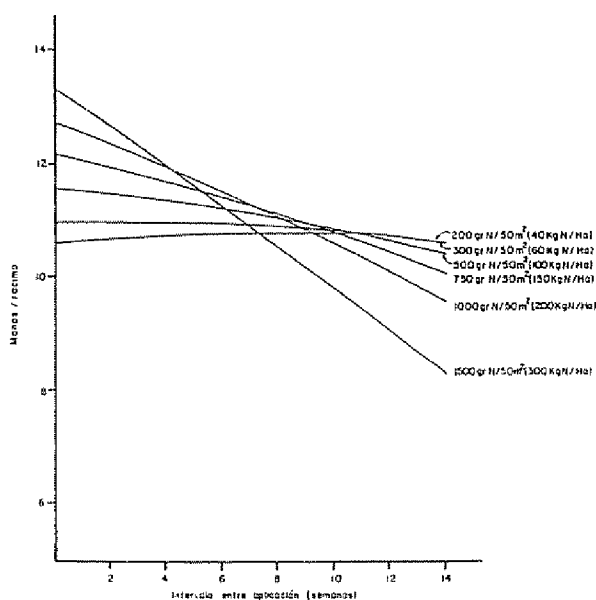


Fig. 4.—Relación entre dosis crecientes de nitrógeno provenientes de urea-azufre en diferentes frecuencias de aplicación y el promedio de manos/racimo. Tica Fratera Guápiles, Costa Rica

un experimento adicional (bloques al azar) cuyos resultados se detallan en el Cuadro 2.

En el Cuadro 2 se observa la variación en los contenidos de algunos nutrimentos con la adición de cantidades crecientes de nitrógeno en las formas de urea y urea-azufre.

Los niveles de nitrógeno foliar son mayores en las plantas a las cuales se les ha adicionado urea-azufre en comparación con aquellas a las cuales se les ha aplicado urea; es indudable que la liberación lenta de nitrógeno permite un mejor ritmo de absorción por la planta favorecido por la adición simultánea de azufre; si la absorción de nitrógeno es continua, el crecimiento lo será de la misma forma, de tal manera la utilización del nitrógeno será obligatoriamente rápida (13, 21, 22).

La mejor respuesta a urea-azufre aplicada cada 12 semanas obviaría el abonamiento nitrogenado en épocas cuando la fotosíntesis es lenta (épocas de alta pluviosidad y nubosidad las cuales corresponden en la zona de estudio, a los meses de julio-agosto y noviembre-diciembre) puesto que además de que estimula en menor grado el crecimiento, se efectúa una gran pérdida por escorrentía y lixiviación.

Los contenidos de nitrógeno total en el suelo no reflejan el estado de asimilabilidad de este nutrimento, por lo tanto no presenta correlación con los niveles foliares.

Además, como lo asevera Payne (18), el nitrógeno foliar no puede utilizarse para evaluar la capacidad de suministro de nitrógeno disponible del suelo, pues el contenido de N-foliar en banano está altamente correlacionado con el uso de fertilizantes.

Los niveles de fósforo foliar tienen poca variación, pero tienen tendencia a disminuir cuanto mayor es la cantidad aplicada de nitrógeno; el antagonismo S-P está atenuado por la adición de urea (10).

Los contenidos de fósforo en el suelo disminuyen con el incremento en la dosis de nitrógeno y la frecuencia de aplicación.

Respecto a los cationes, se observa una disminución del nivel de calcio en el suelo de aquellas parcelas a las cuales se les ha adicionado urea-azufre; lo mismo sucede con el magnesio.

Sin embargo a nivel foliar el magnesio tiende a aumentar ligeramente en aquellas plantas a las cuales se les ha adicionado urea-azufre debido probablemente a la liberación de algún antagonismo como lo sugieren algunos autores (10); el calcio disminuye ligeramente con las dosis más altas de nitrógeno. En las parcelas con urea los niveles de calcio tanto a nivel foliar como del suelo tienen poca variación con la cantidad o frecuencia de aplicación de nitrógeno.

El potasio tiende a disminuir tanto en las parcelas con urea como en las de urea-azufre; pero esta disminución en el K-cambiable es más sensible en el caso de la urea-azufre; sin embargo ello favorece en cierta medida, las proporciones entre cationes.

Los contenidos de azufre en el suelo y a nivel foliar demuestran deficiencia; los niveles foliares están lejos del óptimo, (0,23-0,25 por ciento en la 3ª hoja a la fructificación).

Los contenidos foliares de azufre de las plantas con urea-S son 3 veces mayores que aquellas con aplicaciones de urea común; en el suelo esta relación es de 1,7-2,0 veces más altas en las parcelas con urea-S.

Las cantidades de azufre con cada aplicación de urea-azufre corresponden a 5,7-11,4 y 17,1 kg/ha cada 4, 8 y 12 semanas respectivamente; estas cantidades se consideran altas, pero la fracción utilizable del S incorporado parece que disminuye rápidamente, debido probablemente a lixiviación e incorporación en la materia orgánica. Asimismo el contenido de azufre en el suelo disminuye con cantidades crecientes de nitrógeno. A nivel foliar sucede igual fenómeno; parece que en los casos de deficiencia de azufre se presume un antagonismo N-S o un efecto de dilución por estímulo del crecimiento debido al nitrógeno; según varios autores (10) este efecto desaparece cuando la deficiencia es corregida.

Los mayores rendimientos se obtuvieron con las dosis de 47 kg de nitrógeno/ha aplicado cada 12 semanas; sin embargo la urea-azufre supera en un 18 por ciento la producción obtenida con urea común.

Las disminuciones en nutrimentos tanto en el suelo como a nivel foliar en el testigo (absoluto) dan una somera idea del grado de lixiviación de estos suelos y de las exigencias del cultivo; las pérdidas mayores son las de nitrógeno, potasio y fósforo; en menor grado las de calcio, magnesio y azufre; el rendimiento del testigo representa un 27 por ciento del obtenido con urea y un 23 por ciento del encontrado con urea-azufre.

En conclusión, el mejoramiento cuantitativo de la cosecha observado en estos dos experimentos dan prueba de una notable eficacia de este tipo de fertilizantes de lenta liberación, especialmente en el cultivo del banano.

Cuadro 2—Contenidos promedio de algunos nutrimentos en suelos y hojas (3ª) con cantidades crecientes de nitrógeno adicionado en forma de urea y urea-azufre y con diferentes frecuencias de aplicación.

Dosis (kgN/ha/aplicación) Frecuencia de aplicación (semanas)	N — de urea			N — de urea-S			Testigo	
	16 1	31 8	47 12	16 4	31 8	47 12	Inicio	Final
Contenidos foliares								
N (%)	2,942	2,958	2,970	3,177	3,045	3,230	3,080	2,300
P (%)	0,194	0,183	0,170	0,195	0,187	0,186	0,220	0,150
K (%)	3,762	3,382	3,465	3,603	3,297	3,315	3,600	2,820
S (%)	0,037	0,028	0,024	0,111	0,084	0,079	0,010	0,010
Ca (%)	0,571	0,662	0,695	0,595	0,622	0,566	0,735	0,710
Mg (%)	0,395	0,381	0,398	0,399	0,397	0,415	0,340	0,328
N/P	15,2	16,2	17,5	16,3	16,3	17,4	14,0	15,3
K/N	1,28	1,14	1,17	1,13	1,08	1,03	1,17	1,23
S/N	0,012	0,009	0,008	0,035	0,028	0,024	0,003	0,004
Contenidos en el suelo								
N (%)	0,440	0,488	0,420	0,460	0,478	0,450	0,475	0,380
P (ppm)	37,600	34,400	28,666	33,400	32,400	25,333	43,000	38,000
K me/100 g	1,283	1,256	1,053	1,216	0,982	0,886	1,280	0,820
S (ppm)	7,340	6,200	5,260	13,280	12,350	8,750	8,130	7,500
Ca me/100 g	8,900	9,000	9,150	7,580	7,550	7,433	7,800	7,500
Mg me/100 g	2,744	2,705	2,725	2,635	2,458	2,345	2,420	2,235
Ca + Mg/K	9,07	9,32	11,28	9,11	10,19	11,01	7,98	11,87
Ca/Mg	3,24	3,33	3,36	2,88	3,07	3,17	3,22	3,36
Mg/K	2,14	2,15	2,59	2,17	2,50	2,65	1,89	2,73
Plantas fructificadas/ 50 m <sup>2</sup> (Promedio)	6	10	11	6	8	13	—	3

donde es necesario un ritmo de absorción constante de nitrógeno; además en las condiciones ecológicas de la zona en estudio permite un mejor aprovechamiento del fertilizante, obviando aplicaciones en épocas donde la fotosíntesis es lenta y evitando mayores pérdidas por lixiviación y escorrentía.

Otro efecto directo de este fertilizante es la corrección parcial de la deficiencia de azufre.

Es asimismo plausible un efecto directo del nivel de nutrición azufrado en la calidad de la fruta.

#### Resumen

En una plantación bananera de Guápiles, Costa Rica, se investigan los efectos comparativos de las adiciones de urea común (46 por ciento N) y urea-recubierta con azufre (38,3 por ciento N, 14 por ciento S), en niveles de 0, 16, 31, 47, 68, 136, 205, 272, 341 y 409 kg

N/ha, aplicados a intervalos de 4, 6, 8, 10, 12 y 14 semanas.

Los mayores rendimientos se obtuvieron con la dosis de 47 kg N/ha aplicado cada 12 semanas; sin embargo la urea-azufre superó en un 18 por ciento la producción obtenida con la urea común. Con la adición de urea-azufre se obtuvo además una corrección parcial de la deficiencia de azufre detectada en estos suelos.

28 de octubre de 1975.

RAMIRO JARAMILLO CELIS  
UNION DE COMPAÑIAS CENTROAMERICANAS, UCC, S. A.  
APARTADO 4824  
SAN JOSE, COSTA RICA

RUFO BAZAN  
CATIE  
TURRIALBA, COSTA RICA

## REFERENCIAS

1. BOLAND, D. E. Rainfall and fertilizer effects on nutrient levels in banana leaves. *In* Proceedings of the First Full Meeting of the Association for Cooperation in Banana Research in the Caribbean and Tropical America. St. Lucia Windward Islands West Indies, 1970. 21 p.
2. BREMMER, J. M. Total nitrogen. *In* Black, C. A. et al., eds. Methods of soil analysis. Madison, Wisconsin. American Society of Agronomy, 1965. pp. 1171-1175.
3. CHAMPION, J. y PELEGRIN, P. L'urée-formol utilisé en bananeraie. *Fruits* 10(8):327-329. 1925.
4. DIAZ-ROMEY, R. y BALERDI, F. Determinación de la capacidad de intercambio de cationes del suelo. Turrialba, Costa Rica. IICA, 1967. 3 p.
5. GAMBOA, J. y BIASCO, M. Dinámica del nitrógeno en el suelo después de cinco fertilizaciones consecutivas. *Turrialba* 21(4):114-119. 1974.
6. GODEFROY, J. Etude agro-pédologique des sols de la Cibao au Costa Rica. Institut Français de Recherches Fruitiers Outre-Mer. Paris, 1970. 34 p.
7. HOEFT, R. G., WALSH, L. M. y KFENE, J., D. R. Evaluation of various extractants for available soil sulfur. *Soil Science Society of America Proceedings* 37(3):401-404. 1973.
8. JACKSON, M. I. Análisis químico de suelos: una importante contribución al estudio de la química del suelo. Trad. por José Beltrán Martínez. Barcelona Omega, 1964. 662 p.
9. JARAMILLO, L. R. y GARCIA-BENAVIDES, J. Relación entre el balance hídrico y la duración del desarrollo del fruto del banano (variedad Giant Cavendish) en Guápiles, Costa Rica. *Agronomía Tropical* 25(4):343-354. 1973.
10. MARCHAL, J., MARTIN-PRÉVEL, P. y MELIN, P. Le soufre et le bananier. *Fruits* 27(3):167-172. 1972.
11. MARTIN-PRÉVEL, P. Influence de doses massives d'engrais sur la composition minérale du régime de bananes. *Fruits* 21(4):175-185. 1966.
12. ——— y MONTAGUT, G. Les interactions dans la nutrition minérale du bananier. *Fruits* 21(1):19-36. 1966.
13. ——— y MONTAGUT, G. Dynamique de l'azote dans la croissance et le développement du végétal. *Fruits* 21(6):283-294. 1966.
14. McCLELLAN, G. H. y SCHEIB, P. M. Characterization of sulphur coatings on urea. *Sulphur Institute Journal* 9(3-4):8-12. 1973.
15. MÜLLER, L. Un aparato micro-Kjeldahl para análisis rutinarios rápidos de material vegetal. *Turrialba* 11(1):17-25. 1961.
16. OLSEN, S. Phosphorus. *In* Black, C. A. et al., eds. Methods of soil analysis. Madison, Wisconsin. American Society of Agronomy, 1965. pp. 1035-1049.
17. PAEZ, G. y SILVA, I. Delineamiento dos experimentos de adubação. Brasília. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA, 1975. pp. 49-55.
18. PAYNE, H. The nutrient status of bananas in Jamaica. *In* Proceedings of the First Full Meeting of the Association for Cooperation in Banana Research in the Caribbean and Tropical America. St. Lucia Windward Islands, West Indies, 1970. pp. 36-57.
19. ROOSE, E. y GODEFROY, F. Lessivage des éléments fertilisants en bananeraie. *Fruits* 23(11):580-584. 1968.
20. SULPHUR-COATED urea. *Sulphur Institute Journal* 10(3-4):2-7. 1974.
21. TWYFORD, J. I. y WALMSLEY, D. The mineral composition of the robusta banana plant. II. The concentration of mineral constituents. *Plant and Soil* 41:459-470. 1974.
22. ———. The mineral composition of the robusta banana plant. III. Uptake and distribution of mineral constituents. *Plant and Soil* 41:471-491. 1974.

Dormancy in *Corchorus olitorius* seeds

**Sumario.** Se estudiaron la germinación y latencia de semillas de *Corchorus olitorius* L., una hortaliza conocida en Cuba como gringuele. La eliminación completa o la perforación de la cáscara, o el tratamiento con agua caliente de las semillas, promovieron su germinación. El tratamiento con una temperatura baja a 15°C por 48 horas seguido de 7 días a 25°C, o el tratamiento con ácido giberélico a 25, 50 ó 100 ppm, condujeron también a la germinación.

*Corchorus olitorius* L. (Tiliaceae) is a common vegetable in Western Nigeria which also occurs on abandoned farms and waste places. Local farmers have by practice shown that germination was obtained only when the seeds were first soaked in warm water before sowing. We here report the results of an investigation into the mechanism of dormancy in this species. Seeds of *Corchorus olitorius* were collected from the University farm in August, 1973 and stored in paper envelopes in a dessicator in an airconditioned laboratory until used. Germination tests were routinely performed in 10 cm petri dishes containing 2 sheets of Whatman's No. 1 filter paper, and distilled water, except in experiments on chemical treatment when gibberellic acid solution was used. Fifty seeds were sown in each petri dish and 4 replicates were set up for each treatment. In one group of experiments, the seeds were either leached in running tap water or had their testas perforated with a pin or the testas were completely removed. The seeds were then allowed to germinate under light or dark, for 20-days in the case of the leached seeds and 7-days for the other two treatments. Table 1 shows that the failure of untreated seeds to germinate was in some way connected with the presence of the testa. No germination was obtained in the dark in untreated and cold water leached seeds. The piercing of the testa led to a germination of 65 per cent under dark and 70 under light, while the complete removal of the testas gave 100 per cent germination under both conditions. When

Table 1.—Effect of leaching in running tap water, piercing and removal of testa on the germination of *Corchorus olitorius* in light or dark.

	Percentage germination	
	Dark	Light
Seeds sown normally	0	3
Seeds leached in running tap water	0	8
Seeds with testas pierced	65	70
Seeds with testas removed	100	100

seeds were leached in hot water for 5-minutes and then left in the dark a germination of 55 per cent was obtained. A sample of seeds was stratified at 15°C for 48 hours and then germinated at 25°C for 7 days — this treatment gave a germination of 70 per cent. Finally, one lot of seeds were treated with graded concentrations of gibberellic acid. The results (Table 2) indicate quite clearly that gibberellic acid had a permissive effect in overcoming dormancy in these seeds. Furthermore, the treatment of these seeds with GA or the removal of their testas produced greater germination than the treatment with hot water. The results presented in this paper indicate that most seeds of *Corchorus olitorius* require a removal of testas or a period at low temperature or treatment with gibberellic acid or some leaching with hot water for germination to occur. In nature this cold temperature requirement is not fulfilled in the habitats where these seeds occur. Extensive leaching may be obtained over the length of a growing season. The removal of the seed coat, which is simulated by gibberellic acid treatment, is achieved when the seed coats decay through the activities of microorganisms in the soil. This and the positive response to hot water treatment is further suggestive of the presence of some water soluble growth inhibitors in the seed coats.

Table 2 —Effect of gibberellic acid on the germination of seeds of *Corchorus olitorius* in the dark

Treatment	Germination %
GA 5 ppm	25
GA 10 ppm	45
GA 25 ppm	65
GA 50 ppm	75
GA 100 ppm	80
Water control	0

The inhibitor(s) may be inactivated:

- when there is access to oxygen as when the seed coats are pierced or
- when treated with gibberellic acid

It has been reported that high oxygen atmosphere stimulated germination in inhibitor imposed dormancy of *Avena fatua* (1), and *Xanthium pennsylvanicum* (2). West *et al* (3), reported that gibberellic acid greatly enhanced germination of unstratified seeds. Wareing *et al* (2) further reported that stratification may be involved, with increasing concentrations of growth promoting hormones or decreasing concentrations of growth inhibiting hormones or possibly the interaction between these

### Summary

Germination and dormancy in seeds of *Corchorus olitorius* L. were studied. Complete removal or piercing of the seed coats or warm water leaching of seeds promoted germination.

Low temperature treatment at 15°C for 48 h followed by 24 h at 25°C or treatment with gibberellic acid at 25 ppm, 50 ppm or 100 ppm led to germination

June 8th, 1975.

A. C. ADEBONA  
S. A. ADELUSI  
DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCES  
UNIVERSITY OF IFE  
ILE-IFE, NIGERIA

### REFERENCES

- BLACK, M. Dormancy studies in the seed of *Avena fatua*. I. The possible role of germination inhibitors. *Canadian Journal of Botany* 37:397-402. 1959.
- WAREIGN, P. F. *et al*. Endogenous inhibitors in seed germination and dormancy. In Ruhland, W., ed. *Encyclopaedia of plant physiology*. Berlin, Springer, 1965. pp. 909-924.
- WEST, W. C., FRATTARELLI, F. J. and RUSSIN, K. I. Effect of stratification and gibberellin on germination of *Ginkgo biloba*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 96:380-384. 1970.

## El dendrofenograma, una representación gráfica del comportamiento fenológico de los árboles

**Abstract.** The dendrophenograph, a graphic representation of tree phenology, is described in this paper. This graphic includes an horizontal scale for time and four vertical scales representing respectively, the percentage of leaf flushing, leaf fall, flowering and fruiting. The dendrophenograph is intended for a rapid quantitative comparison of phenology between individual trees or species as well as whole communities.

La fenología es una rama importante de la ecología que estudia las causas y las manifestaciones fisiológicas de los fenómenos de floración, fructificación, caída del follaje, brotación, ramificación etc., en las plantas. La importancia científica y tecnológica del conocimiento fenológico ha sido considerada por varios autores (1, 4, 5)

En dos trabajos anteriores se ha propuesto una serie de lineamientos metodológicos, con el fin de medir con cierto grado de precisión y rapidez, las principales características fenológicas de los árboles (1, 2). La metodología propuesta en esos trabajos no sólo permite

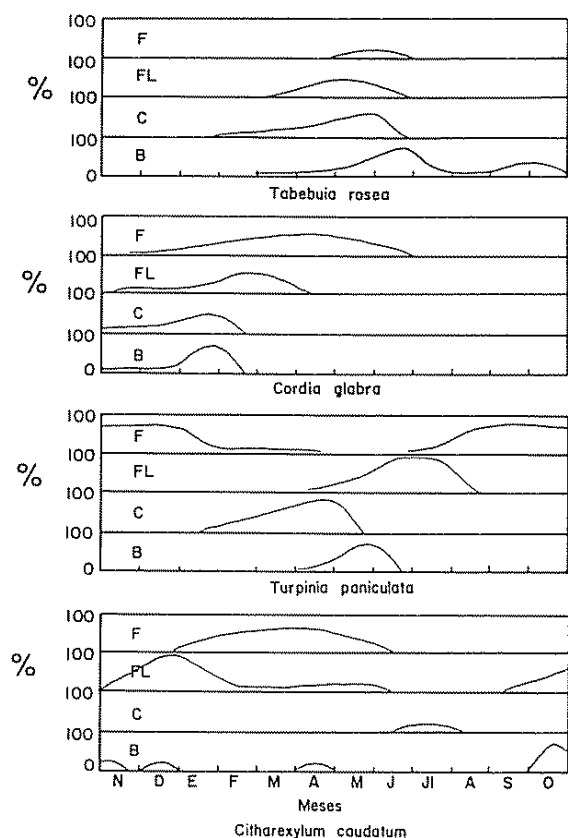


Fig. 1.—Dendrofenogramas de cuatro especies de árboles de San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica: Brotadura (B), caída del follaje (C), floración (FL) y fructificación (F).

determinar el número de individuos que en cada especie exhibe cierto fenómeno, sino que también ofrece la posibilidad de cuantificar esta manifestación.

La presente comunicación tiene como finalidad la descripción de un método gráfico para la representación de las características fenológicas, como un nuevo aporte metodológico en este campo. El gráfico se denomina "dendrofenograma", ya que ofrece una cuantificación cronológica del comportamiento fenológico de los árboles.

#### Descripción del dendrofenograma

La Figura 1 muestra los dendrofenogramas de cuatro especies forestales de la región de San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica: *Tabebuia rosea*, *Cordia glabra*, *Turpinia paniculata* y *Citharexylum caudatum*. Los valores numéricos empleados en la preparación de estos dendrofenogramas son parte de un estudio fenológico de la región arriba indicada, que será publicado simultáneamente (3). El dendrofenograma se compone de un eje horizontal que representa el tiempo en meses

y uno vertical con cuatro escalas porcentuales que representan respectivamente: brotadura (B), caída del follaje (C), floración (FL) y fructificación (F). El "año fenológico" se inicia en estos dendrofenogramas en el mes de noviembre, ya que es cuando comienza la mayor actividad fenológica en la región de San Pedro de Montes de Oca, pero este aspecto se puede variar según las circunstancias regionales.

El estudio comparativo de los cuatro dendrofenogramas de la Figura 1 muestra que este tipo de gráfico permite observar con rapidez las diferencias en el comportamiento fenológico de las diversas especies de árboles, no sólo desde el punto de vista cronológico, sino también cuantitativo. Por ejemplo, si se compara *Tabebuia rosea* con *Turpinia paniculata*, ambas especies caducifolias, es posible establecer ciertas diferencias entre ellas. En las dos especies, la caída del follaje es la primera manifestación fenológica de importancia, pero *Turpinia paniculata* tiene un período de brotadura más corto y la floración es posterior a la caída del follaje y a la brotadura. Por otra parte, en *Tabebuia rosea* la caída del follaje antecede a la brotadura y a la floración, pero los tres fenómenos coexisten durante un largo período. En las dos especies el período de fructificación es muy diferente. Estas diferencias fenológicas entre las dos especies citadas plantean problemas ecológicos y fisiológicos muy interesantes, que el dendrofenograma permite establecer con mayor rapidez que otros métodos.

Los ejemplos que se muestran en esta comunicación ilustran el comportamiento fenológico al nivel de especie, pero el dendrofenograma también se puede emplear para representar este fenómeno al nivel de individuo o de comunidad.

13 de octubre de 1975

LUIS A. FOURNIER  
 ESCUELA DE BIOLOGIA  
 UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
 CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO  
 COSTA RICA

#### REFERENCIAS

- FOURNIER, L. A. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. *Turrialba* 24(4):422-423. 1974.
- y CHARPANTIER, CLAUDIA. El tamaño de la muestra y la frecuencia de las observaciones en el estudio de las características fenológicas de los árboles tropicales. *Turrialba* 25(1):45-48. 1975.
- Observaciones fenológicas en el bosque húmedo de premontano de San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica. *Turrialba* 26(1):54-59. 1976.
- FRANKIE, G. W., BAKER, H. G. y OPLER, P. A. Tropical plant phenology: applications for studies in community ecology. In: Lieth, H. ed. *Phenology and seasonality modeling*. Berlin: Springer Verlag. 1974. pp. 287-296.
- RICHARDS, P. W. The tropical rain forest. *Scientific American* 229(6):58-67. 1973.



## A mutant *Pinus caribaea* var. *hondurensis* seedling incapable of developing normal secondary needles

**Sumario.** Se describe una plántula mutante de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* que ha desarrollado ramas laterales pero que parece incapaz de desarrollar agujas secundarias normales

The rapid growth of tropical pines provides opportunities for morphogenetic studies, which could be useful in developing models for genetic and physiological interactions in these trees (1). A well known example of abnormal morphogenesis in *Pinus caribaea* var. *hondurensis* Barr. & Golf is the foxtail tree, which lacks lateral branches. In this report I will describe a mutant seedling that has developed lateral branches but appear unable to develop normal secondary needles.

In March 1973, secondary needle buds were found on a 54-day-old seedling of the *P. caribaea* var. *hondurensis* provenance 22/70 from Nicaragua. Since development of such buds within 8 weeks after germination is abnormal for this species, the seedling was tagged for continued observations.

In early July shoot elongation stopped, and numerous secondary needle buds developed near the shoot apex (such development, however, is characteristic when shoot growth stops). Shoot elongation began again in the latter part of August, and shortly afterwards secondary needle buds developed in the new growth region.

In all, more than 75 buds, ranging in age from several days to about 9 months, were observed from March through October. None of them developed into secondary needles. On any normal *P. caribaea* var. *hondurensis* seedling as shown in Figure 1, secondary needle buds would develop into needles within a few weeks after germination. In the abnormal seedling described here, the majority of older buds on the lower stem shrivelled up within 3 to 4 months after emergence. This deterioration was progressive, beginning with the buds near the cotyledon leaf scar and moving upward as the seedling grew.

In October two lateral branches developed at the shoot apex (Figure 1). Vigorous growth continued although primary needle length was somewhat less after the semi dormant period than before. In late November, two additional lateral branch buds were observed, one at the terminal apex and one in the center of the stem of the abnormal seedling. By January 1974 the seedling was 27 cm tall.

Secondary needles suddenly appeared in the mutant seedling during April 1974—a full year later than expected. The fascicle sheaths enclosing the needles were smaller than those of normal seedlings. The mean length and S.D. of 20 fascicle sheaths of this seedling was 4.6 mm  $\pm$  1.1 mm; sheaths of normal seedlings in the nursery range between 10 and 12 mm in length.

Whether the seedling had a genetic deficiency for a hormone that induces secondary needle development or

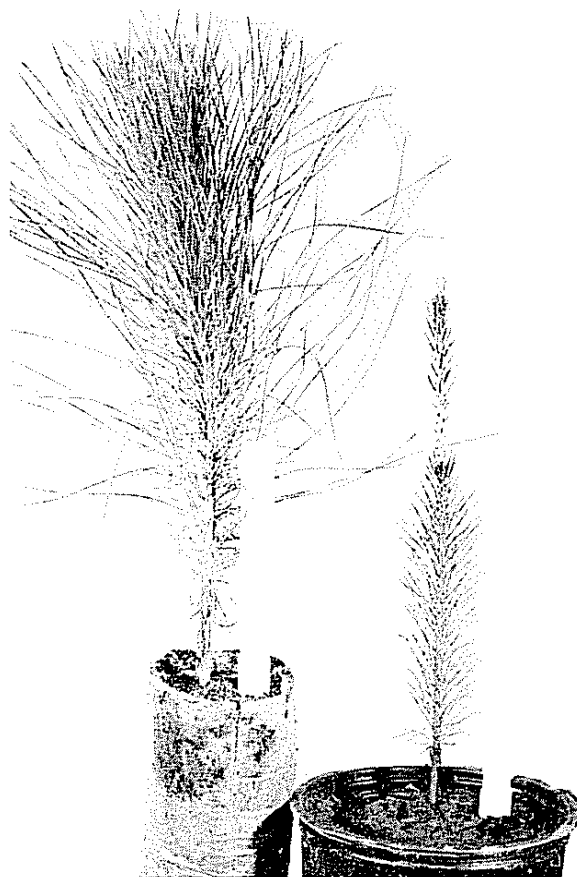


Figure 1—Ten month-old *P. caribaea* var. *hondurensis* seedlings with different needle development. The abnormal seedling on the right has two emerging buds near the tip of the growing point but has failed to develop secondary needles although many buds are present. The seedling on the left has developed normally.

whether needle development was suppressed is not known. Bud dormancy is induced by abscisic acid and released by gibberellic acid. Synthesis of these hormones in some plants is controlled by day length: abscisic acid is produced under short days and gibberellic acid, under long days. Provenance 22/70 was collected from latitude 13°34'N and longitude 84°17'W in Nicaragua. The experimental nursery in Puerto Rico is located at coordinates 18°27'N and 66°05'W. Although the small change in day length may have altered hormone synthesis sufficiently to give rise to this abnormal development, it is more likely that the seedling is a mutation, lacking necessary hormones. Of 600 seedlings of this provenance, only this seedling did not develop normal secondary needles.

The failure of this seedling to develop normal secondary needles from existing buds, while simultaneously developing lateral branches, suggests that development of these structures is regulated by different genetic and

physiological mechanisms. Likewise, branch bud development and secondary needle bud development in fox-tail trees may also be stimulated by different regulatory systems.

If this seedling survives in the arboretum and develops viable reproductive organs, it will be used for controlled crosses with normal trees. Genetic and physiological studies of seedlings in a series of crosses may indicate if they lack the genes which control secondary needle development or if the genes are present but suppressed.

November 28th, 1975

CHARLES R. VENATOR  
INSTITUTE OF TROPICAL FORESTRY  
P O BOX AQ  
RIO PIEDRAS, PUERTO RICO 00928  
U S A

#### REFERENCES

1. LANNER, RONALD M. Growth and morphogenesis of pines in the tropics. In Selection and breeding to improve some tropical conifers. Vol. 1., Oxford, England: Commonwealth Forestry Institute and Department of Forestry, Queensland, Australia, 1972. pp. 126-132.

## Reseña de Libros

SPEDDING, C. R. W. *The biology of agricultural systems*. London, Academic Press, 1975. 261 p

El proceso de producción agropecuaria es de naturaleza tan compleja que para conocer con cierta profundidad algunas de las variables que intervienen en él, ha sido necesario dividir estas variables en grupos comparativamente más pequeños. En esta forma, se han originado numerosos campos de especialización que según aumentan su propia complejidad, continúan subdividiéndose para producir finalmente la atomización cada vez más refinada de los conocimientos disponibles. Debido a esta tendencia analítica, el proceso inverso, o sea la síntesis de conocimientos, su ordenamiento lógico y su posible aplicación práctica con el objeto de modificar la producción agropecuaria, se hace cada vez más difícil.

Una alternativa a este problema es el enfocar la producción agropecuaria en forma de sistema. Este enfoque permite visualizar el proceso en forma integral y por lo tanto establecer el tipo de interacciones que son fundamentales en él. Dentro de este punto de vista, la división del proceso se establece en base a sub-sistemas con entradas y salidas claramente determinadas y cuya concatenación final resulta más lógica para obtener una visión completa del proceso.

En este libro, el autor relaciona los diversos fenómenos biológicos, enfocados como subsistemas, dentro del sistema de producción agropecuario. Aunque la parte puramente pecuaria recibe algo más de atención que la agrícola, el libro no deja de cumplir su propósito integrador y aporta una visión global de la agricultura, que cada vez es más escasa entre los profesionales del agro.

Parte del libro está dedicada al papel que corresponde a la investigación agrícola como generadora de los conocimientos necesarios para producir y a la necesidad de enfocar esta investigación, también en forma de sistemas. Estos capítulos revisten especial importancia y merecen consideración de ciertos investigadores agrícolas hispanoamericanos, quienes llevados algunas veces por la necesidad de la competencia, llegan a la erudición sin comprender la verdadera importancia relativa de su área de especialización en la productividad. Acerca de los objetivos de la investigación agropecuaria, se plantea la inquietud de que no deberían estar dirigidas exclusivamente a

maximizar ingresos, lo que beneficiaría sólo a un grupo reducido de personas durante un tiempo quizás corto, sino que deberían enfocarse al uso más eficiente de todos los recursos, incluyendo el dinero, y así el beneficio sería más duradero y mejor distribuido.

Cada uno de los capítulos de esta obra está ilustrado con diversos tipos de figuras, que además de ayudar a comprender el texto, pueden resultar en extremo interesantes como alternativas útiles para representar gráficamente algunos fenómenos biológicos. En especial, el Apéndice es muy explicativo de la metodología necesaria para representar, en forma de diagramas circulares, los componentes e interacciones de algunos sistemas biológicos. Al final de cada capítulo, se incluyen algunas referencias bibliográficas de gran importancia para aquel que desee profundizar algún tema en particular.

En síntesis, se trata de una obra original, muy bien escrita, sin uso de lenguaje técnico complicado y que cumple cabalmente los propósitos que perseguía su autor.

RAUL MORENO  
CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE  
INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA  
TURRIALBA, COSTA RICA

---

FITZPATRICK, E. A. *An introduction to soil science*.  
Edinburg, Oliver and Boyd, 1974. 176 p

El título dice claramente que no es un libro preparado para edafólogos sino que se trata más bien de iniciar con él a los que quieren conocer algo sobre el suelo. Ese algo puede convertirse en mucho gracias a la redacción y a la presentación general del libro.

Siete capítulos y algunos apéndices integran este texto y en ellos se discuten variados aspectos teóricos y prácticos de la ciencia del suelo.

El primer capítulo se refiere a conceptos fundamentales que consideran a los suelos como fenómenos naturales y como parte del medio. Este capítulo es corto pero continúa o se complementa con otros

El capítulo segundo se refiere a los factores de formación del suelo, siguiendo las ideas expuestas por Jenny, lo que han hecho muchos otros autores, con la diferencia de que Fitzpatrick ha sabido condensar estas ideas en una exposición concisa y muy clara.

El capítulo tercero estudia los procesos de modificación en el suelo. No quiere decir esto exclusivamente procesos de formación del suelo sino los procesos físicos, químicos y biológicos que se realizan en el mismo y que originan las diferencias entre los suelos. El capítulo termina con ejemplos de combinaciones de procesos que producen determinadas clases de suelos.

El capítulo cuarto estudia las propiedades más importantes del suelo, en primer lugar las físicas, a las que nos introduce con el aspecto de la micromorfología del suelo (el autor la llama morfología de secciones delgadas), relativamente nuevo. Después se exponen las propiedades químicas y el conjunto total prepara a la interpretación de la información obtenida, lo que constituye el fondo del capítulo siguiente: La Fertilidad del suelo y el uso de la tierra. Este capítulo expone los factores del suelo que influyen en el crecimiento de las plantas: el espacio o la facilidad que deben tener las raíces para penetrar en el suelo, la aireación, la humedad, etc. El capítulo termina con observaciones sobre el manejo del suelo para el cultivo y sobre el uso de la tierra con diversos fines.

El capítulo sexto expone la necesidad y utilidad de los mapas y la cartografía de suelos: la distribución de los mismos y su representación gráfica.

El último capítulo se refiere a la distribución de las clases de suelos más notables, en el mundo. El autor no utiliza para esto ninguno de los sistemas actuales de clasificación y según él trata de evitar confusiones volviendo al concepto ruso de la zonalidad e incluyendo algunos nombres no conocidos.

Desgraciadamente creo que esto produce un efecto contrario al deseado. Por ejemplo no está claro si los luvosols y clamosols son grupos o subdivisiones de los argillosols. Probablemente quien haya leído el libro sobre pedología publicado anteriormente por el mismo autor, comprenda este sistema, pero un principiante sólo lo comprenderá parcialmente. Este es para mí tal vez el único o uno de los pocos aspectos negativos de este libro.

Los capítulos mencionados no constituyen sino la mitad del libro. La otra mitad, los apéndices, es un aporte muy positivo para el estudio. Empieza con una lista de la información adicional que puede proporcionar el autor. Un segundo apéndice contiene ejercicios prácticos que van desde el estudio del perfil del suelo, hasta el examen de minerales del suelo, la composición química del suelo y de las plantas, con demostraciones de algunas propiedades químicas del suelo.

El apéndice siguiente presenta algunos proyectos de estudio del suelo útiles en un curso inicial de Edafología.

El libro termina con un glosario útil que comprende muchos de los términos técnicos usados, pero que sin embargo es algo incompleto pues no constan todos los grupos de suelos que se anotan en el capítulo 7º, La Geografía de los Suelos.

El libro es un modelo en cuanto a la información gráfica que contiene y aunque se podría desear más variedad geográfica en los ejemplos (La mayor parte son de Inglaterra o Australia), no se puede censurar por esto al autor.

En resumen, un muy buen libro de introducción a la ciencia del suelo con el único defecto anotado, a mi modo de ver, en relación con la clasificación del suelo.

FAUSTO MALDONADO  
FREDESUR  
QUITO, ECUADOR

MESSIAEN, C. N. Le potager agricole 2 Cultures spéciales. Paris. Presses Universitaires de France, 1975. 393 p.

Ce second volume qui concerne les cultures spéciales, fait suite à un premier volume traitant des généralités d'ordre bioclimatologique, agronomique ou phytosanitaire et précède un troisième qui complètera l'information sur les cultures spéciales.

Le second tome en question continue la pagination du volume antérieur et débute par le chapitre 10 à la page 197. Il comporte quatre chapitres qui traitent respectivement des solanées maraichères, des légumineuses maraichères et des crucifères, composées, chénopodiacées, ombellifères maraichères originaires des pays tempérés.

Le premier chapitre se rapporte particulièrement à la tomate, l'aubergine, aux poivrons et piments. Dans le second, il est question du concombre, du melon, de la pastèque et autres cucurbitacées maraichères. Le troisième chapitre qui concerne les légumineuses maraichères s'adresse aux différentes espèces de la famille comme le haricot commun, le haricot d'Espagne, le pois savon, les *Phaseolus acutifolius* et asiatiques, le *Vigna unguiculata*, le pois bourcoussou, le pois de bois et autres. Le dernier chapitre réunit quatre familles différentes. Notons pour les crucifères, le chou pommé, le chou rave, le navet, le radis et le cresson de fontaine; pour les composées, la laitue et la chicorée; pour les ombellifères, la carotte, le céleri et le fenouil de Florence; pour les chénopodiacées, la *Beta vulgaris*, la betterave potagère et la Côte de Blette.

Le schéma de l'ouvrage est plus ou moins le même pour les différentes espèces: description de la plante, exigences climatiques, types variétaux, maladies et ennemis animaux, méthodes de culture et choix variétal. Toutefois, l'information donnée est en proportion de l'importance relative de l'espèce cultivée. Si la tomate s'étend sur près de trente-trois pages, le céleri n'en occupe qu'une seule, par exemple.

Il faut reconnaître que cette collection est une des rares qui réunit tant d'informations en un volume condensé se rapportant aux conditions tropicales. La longue expérience et la grande documentation de l'auteur se traduisent dans un langage clair et précis. A en juger par les nombreux chiffres qui font la base de l'information, cette clarté et cette précision sont d'une utilité remarquable pour le praticien.

La bibliographie présentée, à la fin de l'ouvrage, se divise en diverses sections selon la nature des différentes espèces. Il en résulte une lecture facile et attrayante qui aide beaucoup à l'utilisation de l'ouvrage. Ce genre de lecture laisserait peut-être entendre que les obstacles d'ordre agronomique pourraient se franchir très facilement en ce qui concerne la production intensive au niveau du potager tropicale. Quand bien même ce serait le cas, il ne serait pas recommandable de sous-estimer, en milieu tropical, l'importance des obstacles économiques et humains qui ne rentrent pas toutefois dans les visées de l'auteur.

ANDRÉ VICTOR  
CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE  
INVESTIGACION Y ENSEÑANZA  
TURRIALBA, COSTA RICA

EVANS, L. T., ed. *Crop physiology; some case histories.* London, Cambridge, 1975. 374 p.

Este libro presenta una excelente revisión actualizada de los conocimientos que se tienen en la fisiología de nueve cultivos de gran importancia económica y nutricional. Estos cultivos son: maíz, caña de azúcar, arroz, trigo, soya, guisante, papa, remolacha azucarera y algodón.

Cada cultivo es presentado en un capítulo y en la redacción de ellos han intervenido expertos de renombre internacional de los Estados Unidos, Australia, Japón y México. Al final de cada capítulo se encuentra una extensa lista de referencias bibliográficas.

El primer y último capítulos han sido escritos por el editor y no tratan sobre un cultivo específico sino sobre aspectos tales como los cultivos y el abastecimiento de alimentos en el mundo, la evolución de los cultivos, orígenes de la fisiología de los cultivos y las bases fisiológicas del rendimiento.

Los nueve cultivos considerados no han sido seleccionados solamente por su importancia en la nutrición humana sino también porque presentan una gran variedad de características metabólicas y estructurales así como también una gran diferencia en los tipos de cosecha. Por ejemplo, se estudian raíces en la remolacha azucarera y tubérculos en la papa; granos de gramíneas en el maíz y de leguminosas en la soya; fibras en el algodón y contenido de sacarosa en el tallo de la caña de azúcar.

Las características fisiológicas y las limitaciones para obtener altos rendimientos son igualmente variadas y cada capítulo discute estos temas desde diferentes puntos de vista que van desde los simples aspectos agronómicos hasta los más complejos de tipo teórico como la simulación.

Se enfatiza, a través de todo el texto, sobre la aplicación potencial de los conocimientos que actualmente se tienen sobre fisiología de los cultivos en el campo del mejoramiento genético.

El texto está escrito claramente y presenta en forma condensada los conocimientos y la experiencia de los autores. Sin duda este es un excelente libro de consulta para fisiólogos, fitomejoradores y agrónomos especializados en los cultivos que cubre. También será una excelente guía para aquellos profesores universitarios interesados en dar cursos avanzados sobre fisiología especial de cultivos.

JOSE FARGAS  
CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE  
INVESTIGACION Y ENSEÑANZA  
TURRIALBA, COSTA RICA

HILL, DENNIS S. *Agricultural insect pests of the tropics and their control.* Cambridge, University Press, 1975. 516 p.

In response to a paucity of literature on tropical entomology, the author, Dr. Hill, has attempted to put together in a single volume the fundamentals of applied entomology and useful information on many important pests of the major crops grown in tropical and subtropical regions. He has succeeded in producing a well balanced, practical text book in which all aspects are usefully summarized; of value to students and those concerned with practical pest control alike.

The subject matter is divided into five main chapters. "The principles and methods of pest control" starts with a summary of basic insect ecology and its relevance to pest situations and covers the economic aspects of crop loss and pest outbreak forecasting. The chapter on pest control methods deals with the various possible means of control, from cultural to chemical and touches on some of the more esoteric possibilities, for example using insect pheromones. It ends with a section on pest management and integrated control where several methods are used in combination to achieve both economically and ecologically satisfactory results.

Chapter 4 describes the instances where purely biological control has been attempted in Africa, and demonstrates that whereas it can be very rewarding when successful, few such attempts succeed fully, for reasons often poorly understood.

The section on pesticides and their application is comprehensive and up to date. The properties of a full list of modern insecticides are described and their uses summarized according to both the pests against which they are most effective and the crops on which they are best used. The uses and properties of the various commercial formulations and information on application equipment make this chapter altogether a useful practical guide to chemical control.

The greater part of the book is given over to descriptions of the major pests of important tropical crops, and their control. Distribution maps and illustrations are given for each species which are listed by order

While most of the illustrations are excellent, some are of doubtful value and an overall greater consistency would have been better. Also, and as explained by the author in his introduction, the majority of his examples are taken from Africa, particularly East Africa, concomitant with the author's personal familiarity and original intent of this publication. I feel that perhaps a stronger coverage of other regions, even at the expense of some of the less important African species, would have given the book wider acceptance, although clearly comprehensive coverage of world-wide tropical pests would have been impossible in a volume this size.

In Chapter 6 are listed, under each crop, the pests described in the previous chapter, together with a selection of the minor pests of each crop. There is a comprehensive bibliography, a useful appendix of terms and an index.

In general, a useful working book for practical entomologists, although its predominantly African bias would tend to restrict its use for identification and control to those working in this region.

A B S KING  
RESIDENT SCIENTIST (ENTOMOLOGY)  
CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE  
INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA (CATIE)  
TURRIALBA, COSTA RICA

QUARRELL, C P and ACE, G W Crops under glass.  
London, Macdonald and Jane's, 1975. 181 p (Macdonald Horticultural Series)

Con el objetivo de reunir en un solo volumen los conocimientos básicos para el cultivo de plantas bajo techo, los autores G. P. Quarrell y G. M. Ace, presentan una obra que da algunas referencias históricas sobre la evolución del uso de invernaderos en Inglaterra.

De los catorce capítulos que consta el libro, los ocho primeros están consagrados a dar al lector nociones fundamentales sobre las formas prácticas de modificar el medio ambiente del invernadero: los diversos modelos clásicos de construcción, los materiales de mayor uso, etc. Incluyen, además, algunos elementos importantes sobre la propagación de plantas y el control de plagas y enfermedades. En los seis capítulos restantes de la obra se tratan ejemplos prácticos de producción de legumbres y plantas ornamentales bajo techo.

"Crops under glass" es un libro escrito con sencillez, sin pretender discutir los aspectos teóricos involucrados en la producción de plantas en ambiente de invernadero, de fácil comprensión para aquellas personas deseadas de conocer los elementos básicos de la producción de plantas en condiciones controladas, de utilidad inclusive para los aficionados en la horticultura práctica.

OSCAR ARIAS M.  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
CIUDAD UNIVERSITARIA  
COSTA RICA

DAVIDSON, G Genetic control of insect pests. London, Academic Press, 1974. 136 p £4.00.

In recent years various authors have contributed chapters on the autocidal control of insect pest populations. These traditionally occurred as portions of books encompassing the more general theme of insect pest management and therefore were principally introductory in nature. Although irradiation and chemosterilant techniques have been thoroughly reviewed in the past the more recent research endeavors in hybrid sterility, cytoplasmic incompatibility, translocations, meiotic drive, species replacement, etc. have received only limited attention. In fact, one of the few books encompassing these latter disciplines dispensed with the subjects in only 10 pages.

Davidson has put forth a creditable effort in compiling a single 136 page volume which, in general, encompasses all those areas of genetic control actively researched since the initiation of screwworm eradication. The timing of his book has allowed a more thorough account than could have been heretofore assembled on the latter disciplines mentioned above. It is in these subject areas that the book is noteworthy.

The growing interest in these new research endeavors is obvious from the vast majority of references that have been published within the last 10 years as well as from their symposia popularity at national and international conferences.

Davidson's presentation is centered around published research which he employs to develop the various concepts of genetic control and to expand on their proven as well as theoretical use processes. His compilation, integration and utilization of the numerous references into a particular subject are most commendable. The author takes a very unbiased approach to the field of autocidal control, presenting drawbacks as well as positive aspects. The manner of writing makes the book generally pleasing to read.

The major criticism of most readers might well be the lack of consistency in content selection. Irradiation and chemosterilants are disposed of through the recollection of classical field experiments including design, cost analysis and utilization. Latter chapters are presented in greater depth as Davidson considers more basic scientific facets associated with each control technique.

Chapter 1 is a concise introduction of the general subject of genetic insect control. However, the connotation that autocidal control is a "completely new concept" might have been more accurately identified as "relatively new or recent". Basic principles and dynamics of the sterile male technique are considered in Chapter 2. Various mass rearing considerations and costs are detailed along with some expression of pathways of sterility. In this latter case a prior knowledge of modes of action of sterile techniques would be helpful. The release and dynamics of competitive ratios are presented.

Chapters 3 and 4 center on irradiation and chemosterilants, respectively. In the former a brief summary is given of sterilizing doses and eradication attempts for specific insect pests, principally via gamma radiation. Little or no mention of X-ray, alpha and beta particles

or neutrons is made. Included is a good reference source for specific insect species. Little attention has been given to parameters such as age of development and types and mechanisms of sterility. Although these are thoroughly covered in other books, inclusion here would have rendered the chapter more complete.

In the case of chemosterilants, more basic principles are presented although in a general unhighlighted manner. The introduction to each facet or principle is very superficial. A brief overview of the class of sterilants and some of their properties is given. Again, the author stresses sterilizing concentrations and field release data.

Although Chapter 5, hybrid sterility, follows the previous pattern of presentation by focusing on specific insect species and the research associated therewith, Davidson takes the opportunity to give an overly long detailed description of his own research. He utilized 24 pages to present, in virtual research format, his work with the African malaria vector, *Anopheles gambiae*. Although this presents a mood of inconsistency in his depth of presentation of the various genetic control techniques, it gives the reader a comprehensive view of how a genetic control system might be developed and implemented. The intricacies of such a program are then more clearly understood. This would be especially interesting to students or neophytes in genetic control research.

Chapter 6 attends to the principles of cytoplasmic incompatibility. He continues to utilize examples with different insect species to expand the subject. The concepts and principles again are integrated throughout. Davidson touches lightly on the mechanisms involved but dwells most on what these systems produce. Considerations and problems with field releases are presented.

One of the more complete presentations is in Chapter 7 - Translocations. Here the author establishes the basic principles and by example explains the various progeny potential from autosomal-X and autosomal-Y translocations. The dynamics of translocations are well presented. Conditional lethals are also discussed.

Meiotic drive and sex distortion are discussed in Chapter 8. Suggestions on where and how such systems might work and data to substantiate feasibility are stressed. Species replacement is also presented as a potential approach in genetic control.

Davidson proficiently summarizes in Chapter 9 (3½ pages) the essence of the previous material.

The structure of this book projects its major use as a supplemental source of information at the undergraduate level but more useful in a graduate level course stressing the more in depth study of recent approaches to genetic manipulation in insect populations. Its greatest contribution, in addition to bringing the general subject into a single volume, is the wealth of references which newcomers and researchers presently active in the field will find most helpful.

ARTHUR A. HOWER, JR.  
COLLEGE OF AGRICULTURE  
THE PENNSYLVANIA STATE UNIVERSITY  
UNIVERSITY PARK, PENNSYLVANIA 16802  
U.S.A.

#### *Otras publicaciones recibidas*

DUKE, J. A., HURST, S. J. y TERRELL, E. E. Ecological distribution of 1000 economic plants. IICA-TROPICOS, Información al Día, Alerta, Agronomía N° 1, 1975. 32 p.

Esta publicación es importante por dos razones principales. Primero, la utilidad de los datos que contiene sobre un millar de plantas de valor económico hace que sea una publicación que a muchos les gustaría tener a la mano para consultarla en cualquier momento. Segundo, constituye en cierto modo una demostración de que un servicio de información, como el del IICA-TROPICOS, puede ir más allá de la producción de bibliografías compendios y tablas de contenido, que forman su misión principal y razón de ser, y producir, de vez en cuando, otro material de referencia de utilidad a sus usuarios.

Para cada planta, colocada por orden alfabético de su nombre científico, se anotan los siguientes datos: un nombre común, la zona de vida natural (clasificación de Holdridge), estilo de vida, pH del suelo, índice de horas de sol, precipitación y temperatura anuales, y meses húmedos libres de heladas. Finalmente, se presentan límites de rendimiento, expresados en un común denominador, esta vez millones de BTU por hectárea, tanto por biomasa o los principales productos para los que se utilizan las plantas. Para esta columna no hay datos sino para un 40 por ciento de las plantas, por lo cual los autores solicitan la colaboración de los usuarios para llenar los vacíos en el futuro.

El Dr. Duke ha publicado anteriormente recopilaciones útiles de datos, como su diccionario etnobotánico del Darién y dietarios del hombre, aves, insectos y moluscos del Darién, en Panamá. Desde Beltsville, en donde es jefe del Laboratorio de Taxonomía Vegetal del Servicio de Investigación de los Estados Unidos, está trabajando con la colaboración del Dr. Terrell en una matriz de diversificación de cultivos, mediante el uso de computadores. Este es uno de los productos de este proyecto, y debemos felicitar al Programa Cooperativo para el Desarrollo del Trópico Americano (IICA-TROPICOS) por haber publicado un trabajo inédito de evidente utilidad.

GARCIA, J. G. L., MacBRYDE, B., MOLINA, A. R., y HERRERA-MacBRYDE, OLGA. Malezas prevalentes de América Central. San Salvador, International Plant Protection Center, 1975. 162 p.

Esta es una publicación que identifica 277 especies de malezas, y es el resultado de un esfuerzo multinacional de especialistas de Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua y Costa Rica.

Cada especie está ilustrada por una fotografía en colores y una descripción en español y en inglés que incluye el nombre científico y los comunes usados en la región, y una descripción de caracteres morfológicos que ayuda en el proceso de identificación.

Las descripciones están agrupadas por familias, ordenadas estas alfabéticamente. Dentro de las familias se presentan los géneros alfabéticamente. El índice de materias incluye toda la nomenclatura, incluso los nombres comunes. Las familias con mayor número de especies son las gramíneas (con 38 especies), compuestas (37), leguminosas (26), siguiéndolas algo alejadas ciperáceas (11), euforbiáceas (11), amarantáceas (10) y malváceas (9). Las 57 familias restantes, del total de 64, están representadas por menos de 9 especies cada una.

La entidad responsable de la publicación es el International Plant Protection Center, un organismo locali-

zado en la Oregon State University, en Corvallis, y que anteriormente ha publicado libros similares sobre malezas tropicales (en 1972), malezas acuáticas (en 1971) y malezas de clima frío (en 1970). Estos tres libros, que tienen las mismas características que hemos descrito para esta obra de 1975, fueron hechos en colaboración con el Instituto Colombiano Agropecuario. Se ha contado para publicar esta valiosa obra de consulta para el istmo con la cooperación económica de firmas comerciales de productos químicos y ayuda técnica de instituciones e individuos de los países centroamericanos.