UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

REVISTA
DE LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

Diciembre 1965 — ENTREGA II — TOMO XVI

SUMARIO

Pág.

MOLINA, JORGE S.: Influencia del anhidrido carbónico en el pH de los suelos alcalinos. 3

ATLAS DE GOTUZZO, ESTHER: La bacteriosis de la soja en la Argentina. 27

PASCALE, ANTONIO J. y ASPIAZÚ, CELESTINO: Régimen de horas de frío durante el invierno en Buenos Aires. 63

QUINTANILLA, RAÚL H. y GONZÁLEZ, H. E. S. DE: Comportamiento de varios insecticidas utilizables en el tratamiento de depósitos de granos. 83

ORDÓÑEZ, CEFERINA R., RIVERÓS, MARÍA H. C. K. DE, y VONESCH, EUGENIO E: Acción de la N(2-4 Diclorofenil) Glicinhidracida y de la O(2-4 Diclorofenil) Acetilhidracida sobre la actividad amilásica de semillas de maíz en germinación. 97

COSTA, JUAN JOSÉ, GHELFI, RODOLFO ANTONIO y BRENZONI, EDGARDO OSCAR.: Técnicas utilizadas en la aplicación de un herbicida marcado con C^{14}. 109

JAUCH, CLOTILDE.: Viruela de la remolacha azucarera II. Tipos de colonias de Cercospora beticola aislados en el país. 131

RESEÑAS BIBLIOGRÁFICAS. 143

BUENOS AIRES
IMPRENTA DE LA UNIVERSIDAD
—
1965

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

REVISTA
DE LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

TOMO XVI

BUENOS AIRES
IMPRENTA DE LA UNIVERSIDAD
1965

Decano: Doctor Antonio Pires

Vicedecano: Ing. Agr. Raúl H. Quintaniila

Secretario: Ing. Agr. Enrique A. Iglesias

Pro-Secretario: Señor Juan Carlos Bregante

CONSEJO DIRECTIVO

Consejeros Titulares

Profesores

Ing. Agr. Raúl H. Quintanilla
Ing. Civ. Enrique Levin
Doctora María T. P. de Marzoratti
Ing. Agr. Clotilde Jauch
Ing. Agr. Carlos Remussi
Ing. Agr. Juan J. Burgos
Ing. Agr. Mario J. Amor Asunción
Doctor Benjamín L. Morán

Egresados

Ing. Agr. Virgilio S. Solari
Doctor Carlos A. Schiappacassi
Ing. Agr. Ricardo A. Richeri
Ing. Agr. Jorge C. Conti

Estudiantes

Señor Fernando G. Pueyrredón
Señor José María Caride
Señor Luis A. Iglesias
Señor Miguel S. Sobrero

Director de la Revista Ing. Agr. Lorenzo R. Parodi

Sub-Director de la Revista Doctor Víctor R. de Vera

Director de la Biblioteca y Secretario de la Revista
Bibliot. Nac. Señor Angel Fernández

Secretaría: Biblioteca Central. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Avda. San Martín 4453 T. E. 51.5779, Buenos Aires. Argentina

REVISTA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA DE BUENOS AIRES
16 (Entrega II): 3-26 Dic., 1965

631.415.1: 631.415.3

Influencia del anhídrido carbónico en el pH de los suelos alcalinos

POR

JORGE S. MOLINA, Ing. Agrón. (*)

''Soil reaction is not a constant property of any soil but a function of many factors''.

Whitney and Gardner (1943)

Antecedentes

Los suelos alcalinos presentan algunas características especiales en relación con la influencia del anhídrido carbónico en el pH de los mismos.

Whitney y Gardner (1943) han establecido claramente que el pH de un suelo alcalino está vinculado directamente con la presión de anhídrido carbónico en el mismo. Incluso midiendo la presión de anhídrido carbónico en un suelo de este tipo es posible determinar su pH.

Según sus propias palabras ''Determinations of pH in a suspen-
'' sion of soil in distilled water with a very low CO_2 content because
'' the soil is under a lower CO_2 pressure than is ever found in the field,
'' sion of soil in distilled water with a very low CO_2 content because
'' the soil is under a lower CO_2 pressure than is ever found in the field,
'' probably would give a much higher pH for calcareous soils than is
'' ever found in the field. For this reason single pH determinations
'' made under such conditions are limited in usefulness. It is suggested
'' that, for single-value pH determinations, equilibrating the soil with
'' air before the determination would give a better value because such
'' a value would aproximate maximum pH of the soil under field con-
'' ditions. Another pH value obtained by equilibrating the sample with

(*) Profesor Titular de Agricultura General. Colaboraron en este trabajo varios de los ayudantes de la cátedra y alumnos que realizaban trabajos de intensificación.

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Investigaciones Agrícolas apoyado por la Fundación Juan Bautista Sauberán, contándose asimismo con un subsidio especial del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

''a stream of pure CO_2 gas would give the aproximately minimum pH ''of the soil under field conditions. Connecting the two points would ''give a curve characteristic of the soil.''

Estas ideas tan concretas y que indican claramente el camino a seguir, lamentablemente no fueron llevadas a la práctica, por lo menos de acuerdo a las informaciones que han estado a nuestro alcance.

El método desarrollado posteriormente por los mismos autores para la determinación del pH de suelos alcalinos resultaba un tanto complicado, siendo quizás este el motivo que limitó su aplicación posterior.

Las investigaciones desarrolladas en el presente trabajo tienden a desarrollar las ideas enunciadas por estos dos autores americanos, vinculándolas con los ensayos de mejoramiento de suelos alcalinos en gran escala llevados a cabo en la República Argentina por Sauberan y Molina (1960).

Material y métodos

Los suelos con los que se ha trabajado son los indicados en la planilla 1. Además en las planillas adjuntas se incluyen algunos datos analíticos parciales de las muestras objeto de este estudio. (Ver Apéndice.)

Se trabajó principalmente con un Beckman Zeromatic equipado con electrodos ''Standard'', lo que introduce algunos pequeños errores en las determinaciones de pH más elevados.

Determinación de pH ''standard''.

En los ensayos preliminares se usó principalmente la dilución suelo-agua de 1:2,5 y estos datos son los incluídos en la planilla Nº 2.

Posteriormente se ensayaron otras diluciones que se indican en cada caso. Los datos incluídos en la planilla Nº 3 han sido determinados en la relación 1:10.

En todos los casos se usó agua destilada exenta de CO_2 por ebullición. La mezcla suelo-agua se agitó por 30 minutos.

Determinación de pH en corriente de CO_2.

En el mismo vaso de precipitados en el que se hizo la determinación ''standard'' se hizo pasar una corriente de CO_2 regularmente intensa. El pH desciende de inmediato y el dato anotado corresponde a la estabilización que se produce al cabo de 4 - 5 minutos. En las curvas adjuntas se indican las lecturas de pH cada minuto.

PLANILLA Nº 1

Número muestra	*Descripción de la misma*	*Datos de campaña*	
		Cloruros	*Sulfatos*
1	Muestra superficial de un bajo salitroso, con agropiro bien germinado. Est. Don Roque (Pirovano - F.C.N.G.R.).	++	++
2	Idem. Muestra superficial de un sector sin vegetación con sales en superficie.	+++	+++
5	Idem. Muestra superficial cerca de un sumidero de drenaje. Suelo lavado.	+	—
6	Idem. Muestra de la costra salitrosa.	n. d.	n. d.
7	Idem. Muestra de 1,0-1,20 de profundidad.	+++	+++
8	Muestra superficial de un cañadón salitroso en la Estancia "La Barrancosa" (Rufino - F.C.N.G.B.M.).	n. d.	n. d.
11	Bajo salino en la Estancia "La Irenita" (Daireaux - F.C.N.G.R.). Muestra superficial, parte estéril a 1 m. de donde comienza la vegetación.	+++	+++
15	Bajo alcalino en la Estancia "El Correntino" (Albariños - F.C.N.D.F.S.). Muestra superficial, potrero 100.	+	—
16	Idem, anterior. Muestra superficial pot. 101.	+++	+
17	Muestra superficial bajo salino. Campo "La Florencia", pot. 14. (Ceres - F.C.N.G.B.M.).	+++	++
18	Idem, anterior. Pot. 25 S.O. Muestra superficial manchones sin vegetación.	+	+
19	Suelo recuperado con pradera bien implantada de agropiro alargado, "trébol dulce", etc. en el bajo salitroso. Estancia "Don Roque" (Pirovano - F.C.N.G.R.).	+	—
20	Muestra tomada a pocos metros de la anterior. Suelo sin vegetación, se lo toma como testigo del estado del suelo antes de la implantación de la pradera.	++	—
21	Muestra superficial de un bajo alcalino de la Estación Experimental de Anguil. Parte estéril, sin vegetación a 1 m. del borde donde comienza la misma.	n. d.	n. d.

PLANILLA Nº 1 (Cont.)

Número muestra	*Descripción de la misma*	*Datos de campaña*	
		Cloruros	*Sulfatos*
22	Idem. a la anterior, pero en el borde mismo con vegetación.	+	—
23	Idem. a la anterior, pero tomada en la parte con vegetación a 1 m. del borde donde comienza la misma.	+	—
24	Muestra superficial de un bajo salino-alcalino de la misma estación. Parte estéril.	+++	+++
25	Idem. anterior. Borde vegetación.	++	+
26	Idem. anterior. Zona con vegetación.	+	+
27	Muestra superficial de un salitral negro en la isla de Choele Choel. Parte estéril.	+++	+++
28	Idem. a la anterior. Borde con vegetación.	++	++
29	Idem. a la anterior. Zona con vegetación.	+	+
30	Muestra superficial de un campo salitroso en Pilar (Buenos Aires) parte estéril.	+	+
31	Idem anterior. Borde con vegetación.	+	—
32	Idem anterior. Zona con vegetación.	+	—
33	Bajo alcalino. Estancia "El Gallo" (Andant - F.C.N.G.B.M.). Muestra superficial zona estéril (potrero 4).	n. d.	n. d.
34	Idem a la anterior. Borde con vegetación.	n. d.	n. d.
35	Idem a la anterior. Zona con vegetación.	n. d.	n. d.
36	Bajo salino en la Estancia "La Larga Vieja" (La Larga - F.C.N.G.R.). Zona estéril.	+++	+++
37	Idem a la anterior. Borde con vegetación.	+++	+++
38	Idem a la anterior. Zona con vegetación.	+++	+++

Número muestra	*Descripción de la misma*	*Datos de campaña*	
		Cloruros	*Sulfatos*
39	Bajo alcalino en la Estancia "Don Elías" (Ceres - F.C.N.G.B.M.). Muestra superficial, potrero 23. Zona estéril.	++	—
40	Idem a la anterior. Borde con vegetación.	+	—
41	Idem a la anterior. Zona con vegetación.	n. d.	n. d.
42	Bajo alcalino en la Estancia "El Deseado" (Urdampilleta - F.C.N.G.R.). Muestra superficial de la zona estéril.	++	++
43	Idem a la anterior. Borde con vegetación.	++	++
44	Idem a la anterior. Zona con vegetación.	—	—

Determinación de pH en corriente de aire.

A continuación de la determinación del valor en corriente de CO_2 y siempre en el mismo vaso de precipitados, se hace pasar una corriente muy intensa de aire, que mantiene al suelo en suspensión. Se determina el pH cada 5 minutos y se anota el dato final cuando el pH se estabiliza, lo que ocurre generalmente al cabo de 25 - 30 minutos. En las curvas adjuntas figuran todas las determinaciones parciales y en la planilla Nº 3 el resultado final de las determinaciones efectuadas.

Resultados

Estudio de un bajo "salitroso" en Alberti (Buenos Aires)

En este ensayo preliminar realizado por el Ing. Agrón. C. A. Vollert bajo nuestra dirección, se estudiaron los suelos de diferentes sectores de un bajo "salitroso" en la localidad de Alberti, en la Provincia de Buenos Aires.

Las muestras fueron seleccionadas tratando de englobar la mayor parte de las zonas diferenciales de tierras dentro del bajo, las que se caracterizan sobre todo por la diferencia de nivel.

Muestra A. Suelo sin vegetación, en la parte más baja del potrero. Con manchones de sal en superficie. Capa dura de tosca a 30 cm. de profundidad. Contenido de materia orgánica 1,61 %.

Muestra B. Tomada a dos metros de distancia de la muestra ante-

PLANILLA Nº 2

Nº muestra	pH "standard" suelo-agua 1: 2,5	pH final en corriente de CO_2
1	9,4	6,1
2	11,2	6,9
3	9,5	6,1
5	10,6	6,7
7	10,0	6,0
8	10,2	6,0
11	10,2	5,5
15	9,3	6,1
16	9,9	6,5
17	7,7	5,3
18	10,3	5,8
19	7,9	5,4
20	9,6	6,2
21	10,1	6,4
22	10,0	6,6
23	9,6	6,5
24	11,4	6,6
25	10,8	6,5
26	9,4	6,3
27	10,6	6,6
28	10,1	6,4
29	9,8	6,4
30	10,1	6,4
31	9,0	6,0
32	8,7	5,6
33	9,4	6,1
34	9,1	5,9
35	8,3	5,6
36	10,0	6,8
37	10,1	6,5
38	9,9	6,7
39	10,1	6,1
40	8,8	5,7
41	7,0	5,5
42	9,7	6,3
43	9,7	6,0
44	8,8	5,9

terior, donde comienza a desarrollar la vegetación compuesta principalmente por Distichlys sp. (''pelo de chancho''). Capa de tosca a 60-70 cm. Materia orgánica 2,25 %.

Muestra C. Similar a B pero con mayor desarrollo de vegetación. 2,44 % de materia orgánica.

Muestra D. Tomada en la zona donde comienza a elevarse el terreno y la vegetación mejora de manera visible. Tosca a 70-80 cm. Contenido de materia orgánica 2,59 %.

Muestra E. Muestra zona alta con suelos normales de la región. No se encuentra tosca. 3,83 % de materia orgánica.

Todas las muestras son superficiales.

Los datos de campaña correspondientes a estas muestras figuran a continuación:

Muestra	Reacción a la fenolftaleína	Cloruros	Sulfatos	Carbonatos
A	Rojo	+++	++	+
B	Rojo intenso	++	—	+
C	Rojo intenso	+	—	+
D	Rosado	—	—	—
E	Incoloro	—	—	—

Los estudios con respecto a la influencia del CO_2 se realizaron en todas las muestras de la serie con los siguientes resultados:

Muestra	pH ''standard'' 1: 2,5	pH final en corriente de CO_2
A	11,6	6,3
B	9,7	5,4
C	9,9	5,7
D	8,2	4,9
E	5,5	4,4

En este ensayo particular se empleó un potenciómetro ''Hidrogenion'', realizándose las determinaciones en el Laboratorio de la Cátedra de Microbiología Agrícola de la Fac. Agron. y Vet. Bs. As., por gentileza del profesor Ing. Agrón. Santos Soriano.

Estudio del bajo "salitroso" de la Estancia "Don Roque" (Pirovano).

En el mismo bajo salitroso indicado en la primera parte de este trabajo se tomaron dos muestras tipo.

Muestra A. Suelo testigo sin mejorar. Prácticamente carente de vegetación. Muestra 0-20 cm. Materia orgánica 1,9 %.

Muestra B. Suelo a pocos metros de distancia de la muestra anterior. Pastura permanente compuesta principalmente por agropiro alargado, "sweet clover", etc. Con muchas deyecciones de vacunos en superficie. Es en realidad el mismo suelo anterior, mejorado durante tres años por la pastura permanente. Contenido de materia orgánica 3,42 %.

Los datos analíticos de campaña correspondientes a estas muestras, son los siguientes:

Muestra	Reacción a la fenolftaleína	Cloruros	Sulfatos	Carbonatos
A	Rojo	++	—	+
B	Incoloro	+	—	—

Las determinaciones de pH dieron los siguientes datos:

Muestra	pH "standard" 1: 2,5	pH final en corriente de CO_2
A	9,9	5,8
B	8,6	4,8

Otra muestra extraída del mismo bajo, en el lugar en el que habían germinado una serie de plantas de agropiro alargado (casi en la misma costra "salitrosa"), dio los siguientes resultados:

Muestra suelo con agropiro germinado:

pH "standard" 1 : 2,5	*pH final en corriente de* CO_2
10,3	6,4

En este lugar no hubo incorporación previa de maíz de Guinea, lo que indica la enorme resistencia del agropiro alargado a condiciones extremas de alcalinidad. (Sauberán y Molina, 1960).

Ensayos preliminares con suelos "salitrosos" de diversas procedencias:

Los números de las muestras corresponden a los suelos cuyas características se detallan en la planilla Nº 1.

Los resultados obtenidos se indican en la planilla Nº 2 —datos tomados de Molina y Quant. (1962.)

Ensayos definitivos:

De acuerdo con los ensayos preliminares, se adoptó el sistema de determinar a continuación uno de otro los valores de pH correspondientes a la influencia del CO_2 y del aire.

Se determinó, de acuerdo a lo que se indica en los métodos de trabajo, primeramente el pH "standard" en relación suelo-agua igual a 1 : 10.

A continuación se hace pasar la corriente de CO_2 y una vez determinado el valor final de pH en estas condiciones, se hace pasar la corriente de aire.

Los datos obtenidos se indican en la planilla Nº 3. Los números de muestra indicados corresponden a los suelos de la pianilla Nº 1.

De cada una de las muestras indicadas se confeccionó una curva completa.

Las curvas son todas muy similares y semejantes a las indicadas en los gráficos adjuntos (Suelos Nº 21, 22 y 23).

Ensayos especiales:

a) *Modificación del pH de una suspensión de suelo tratada con CO_2 y dejada directamente en contacto con el medio ambiente.*

El primer ensayo se realizó con la muestra Nº 29 (Planilla Nº 1) tomada en el sector con vegetación de un manchón salitroso en la isla de Choele Choel.

pH "standard", suelo-agua 1:10 .... 8,9 *Agitación 30 minutos*
pH final corriente CO_2 5,2
pH „ „ aire 8,0

PLANILLA N° 3

Número Muestra	pH "standard" 1: 10	pH final en corriente de CO_2	pH final en corriente de aire
1	10,0	5,7	8,5
2	9,7	5,6	8,3
3	8,7	5,6	8,3
5	9,6	5,8	8,3
7	9,8	5,9	8,0
8	9,3	5,3	8,2
11	9,4	5,4	7,8
15	9,4	5,7	8,3
17	7,7	5,1	7,5
18	9,8	5,2	8,0
19	8,5	5,2	7,8
20	9,6	5,8	8,2
21	10,0	6,0	8,5
22	10,0	5,8	8,4
23	9,6	5,7	8,4
24	10,3	5,9	8,6
25	10,2	5,8	8,6
26	9,3	5,6	8,3
27	—	—	—
28	10,2	5,8	8,6
29	8,9	5,2	7,9
30	10,0	5,7	8,5
31	9,0	5,2	7,9
32	8,9	5,1	7,7
33	—	—	—
34	9,3	5,4	8,2
35	8,6	5,1	8,0

Los datos y curvas obtenidos son muy similares a los indicados por Bradfield (1941), trabajando con suelos calcáreos con un procedimiento semejante.

La misma muestra se agitó asimismo 30 minutos y se dejó a temperatura ambiente en el laboratorio. A las 24 horas se tomó pH después de agitar muy poco tiempo.

pH "standard" suelo-agua 1:10 8,6
pH final corriente CO_2 5,2
pH „ „ aire 8,0

La misma muestra anterior se agitó solamente 1 minuto y se determinó el pH con los siguientes resultados:

pH "standard" suelo-agua	9,3
pH final corriente CO_2	5,2

En lugar de hacer pasar una corriente de aire, se dejó la suspensión de suelo a temperatura ambiente y se determinó al pH a tiempos variables, con los siguientes resultados:

pH inicial	5,2
pH 1 hora después	5,5
pH 2 horas después	5,5
pH 3 horas después	5,7
pH 10 horas después	8,0

Esto indica que la suspensión suelo-agua tiende a adquirir al cabo de unas cuantas horas un equilibrio con el CO_2 del aire, que es similar al que se obtiene rápidamente, haciendo pasar una corriente de aire a través del líquido.

Aparentemente de acuerdo con los datos obtenidos, los valores de pH determinados en corriente de CO_2 y de aire, son más estables que los obtenidos en la forma "standard".

Ante estos resultados preliminares se consideró de interés llevar a cabo un estudio más detallado, el que fue efectuado por los alumnos de agronomía, Sres. M. Moneta y A. Varela, bajo nuestra dirección.

Se tomaron para este ensayo cinco muestras de un bajo "salitroso" de la localidad de Rojas (Buenos Aires) y los resultados se indican a continuación:

Muestra	pH standard 1: 10	pH corriente CO_2	pH 72 hs.	pH 6 días	pH 21 días
Rojas					
I	7,4	5,2	6,1	—	—
IIa.	9,7	6,0	7,9	8,4	9,0
IIb.	9,4	5,9	7,2	7,9	8,6
III	10,2	5,8	7,5	8,2	9,1
IV	9,8	6,3	7,0	8,5	9,4

Resulta bien evidente que al cabo de pocos días el pH se eleva nuevamente y tiende a estabilizarse con el contenido de CO_2 del aire.

Esto indica la necesidad imprescindible de mantener una provisión constante de CO_2, si queremos mantener bajo el pH de un suelo alcalino.

Si se toma una suspensión de suelo alcalino en agua y se trata con una corriente de CO_2 hasta constancia de pH y luego se hace hervir por unos minutos, el pH aumenta bruscamente, aproximándose a los valores iniciales.

Por ejemplo, en una muestra de un bajo "salitroso" de Vicente L. Casares se tuvieron los siguientes datos:

pH "standard" 1:10	9,8
pH final corriente CO_2	5,6
pH hervido 5 minutos y enfriado	9,0

b) *Modificación del pH de un suelo alcalino en contacto con una atmósfera saturada de CO_2.*

Se trató de estudiar el efecto de una atmósfera saturada de CO_2 en el pH de un suelo alcalino. Se tomó para ello una muestra de un bajo "salitroso" de la localidad de Vicente L. Casares.

Se humedeció el suelo aproximadamente a la humedad equivalente y se colocó en un desecador, en una atmósfera de CO_2. Al cabo de los tiempos indicados, se extrajeron muestras y se determinó el pH en la forma "standard", relación suelo-agua 1:2,5.

pH original del suelo ..... pH	9,7
pH del suelo a los 30 minutos ..... (atmósfera de CO_2)	8,4
pH del suelo a las 24 horas ..... (ídem. anterior.)	8,3

c) *Ensayos preliminares sobre la influencia del CO_2 en suelos no alcalinos.*

Todos los ensayos anteriores sugirieron la idea de probar que efecto podría tener el agregado de CO_2 en suelos no alcalinos. A tal efecto se hicieron varios ensayos que se detallan a continuación:

Muestra	pH "standard" 1: 2,5	pH final corriente CO_2
Misiones		
"Capuera"	4,2	 3,4
Yerbal 1	5,0	 4,1
Yerbal 2	5,3	 5,3
"Compost"	7,8	 5,4
"Campo" A	5,3	 5,0
B	5,5	 5,1
C	5,5	 4,8
Saavedra (Bs. As.)		
A	6,0	 4,6
B	5,3	 4,0

En una serie de suelos de la estancia "El Aguapé" de González Cháves, se hizo un estudio más completo, incluyendo el agregado de aire.

Muestra	pH "standard" 1: 10	pH en corriente CO_2	pH en corriente de aire
1	5,4	4,9	5,4
2	5,7	5,0	5,8
3	5,4	5,1	5,4
4	5,7	5,2	5,7
5	5,6	5,1	5,6
6	5,3	5,0	5,4
7	5,3	5,0	5,4
8	5,9	5,3	6,1
9	5,5	5,1	5,6

Aparentemente los suelos ácidos están casi en equilibrio con el CO_2 de la atmósfera e incluso en algunos casos el agregado de CO_2 casi no altera el pH.

Por otra parte, la aireación intensa lleva al suelo a los mismos valores iniciales de pH o aun mayores, en contados minutos, lo que no se observa nunca en los suelos alcalinos.

Para dar una idea de las curvas que se obtienen en los suelos no alcalinos con el agregado de CO_2 y de aire, se agregan las de los suelos 8 y 9 de González Cháves al final de las curvas de los suelos alcalinos.

Discusión

Los datos que anteceden confirmarían plenamente en nuestra opinión los trabajos y las ideas expresadas por Whitney y Gardner, en el sentido de que en los suelos alcalinos la tensión de CO_2 es el factor decisivo en el pH de los mismos.

Posiblemente en los suelos alcalinos no tengan validez los principios básicos de la agricultura, elaborados sobre todo en terrenos ácidos o neutros. En éstos interesaría sobre todo eliminar rápidamente el CO_2 producido por la descomposición de materiales orgánicos o la respiración de las raíces, para evitar una acidez excesiva.

De allí la necesidad de mantener aireado el suelo mediante labores frecuentes, aradas profundas, etc. En los suelos "salitrosos" posiblemente convenga, sobre todo en la etapa inicial de su recuperación, mantener el CO_2 dentro del suelo y facilitar al mismo tiempo al máximo la producción del mismo.

En esta forma el pH podría ser mantenido en valores compatibles con el desarrollo de las plantas. Estos trabajos explicarían muchas de las prácticas agrícolas tradicionales de las regiones con suelos calcáreos, donde el problema puede ser muy similar al de los suelos estudiados en este trabajo.

Breazeale y Mc George (1932) indican que el contenido de CO_2 de los suelos alcalino-calcáreos es extremadamente bajo. Ellos concluyen que el bajo nivel de CO_2 en tales suelos es un factor muy importante en la carencia de asimilabilidad de los fosfatos que se observa en estos suelos. Sus observaciones indican que la falta de fósforo asimilable es el mayor factor limitante en estos suelos y que es debida a la escasez de CO_2.

En síntesis se podría expresar que los principios básicos son conocidos desde hace tiempo. Lamentablemente habían caído aparentemente en el olvido o no se les había dado la importancia que realmente tienen.

Creemos que es necesario incorporarlos nuevamente a la práctica agrícola de todos los días en el manejo de los suelos alcalinos. Las enormes posibilidades teóricas que se abren actualmente para la recuperación en gran escala de los suelos de esta clase entendemos que justifica cualquier esfuerzo en ese sentido.

Conclusiones

1º — Se confirman los resultados previos de Whitney y Gardner relativos a la importancia decisiva del CO_2 en el pH de los suelos alcalinos.

2º — Se desarrolla un método simple para determinar los valores promedio y mínimo de pH que se pueden obener en un suelo alcalino en condiciones de campo.

3º — La determinación corriente en agua exenta de anhídrido carbónico, permitiría aparentemente conocer el pH máximo que se obtendría en el suelo en su capa más superficial, en períodos de intensa insolación.

4º — El dato obtenido en corriente de CO_2, se podría equiparar al pH mínimo del suelo, en contacto con las raíces en actividad o con los trozos de materia orgánica en descomposición activa.

5º — El pH obtenido en corriente de aire calculamos que podría indicar un valor medio del pH existente realmente en la masa del suelo.

6º — El rápido aumento del pH de los suelos tratados con CO_2, sobre todo en caliente, indica la conveniencia de mantener los suelos cubiertos con residuos de rastrojos o sobrantes de pastoreo, sobre todo en el verano. Por otra parte debemos tratar de asegurar una provisión continua de CO_2, ya sea mediante la incorporación de residuos o el desarrollo de cultivos en activo crecimiento.

8º — Se extraen algunas conclusiones prácticas en el manejo de suelos alcalinos que podrían permitir el mejoramiento de los mismos en condiciones sumamente económicas.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

Bradfield, R. (1941). *Calcium in the soil. Soil Sci. Soc. Amer.* Proc 6: 8-15.

Breazeale, J. F. and Mc George, W. T. (1932). Mencionado por Hayward, H. E. and Wadleigh, C. H. 1949. *Plant growth on saline and alkaline-soils.* Adv: Agron. 1: 1-38.

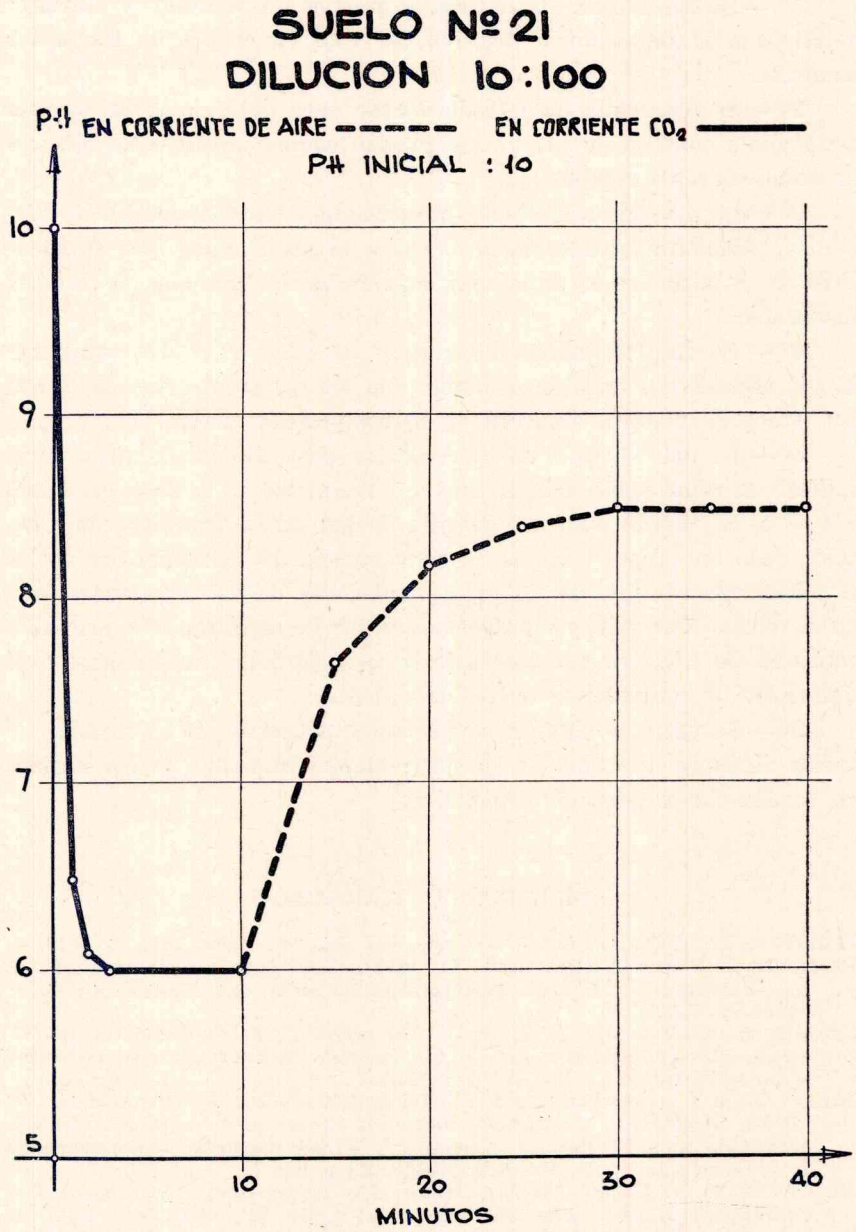
Gardner, R and Whitney, R. S. (1943) *The effect of carbon dioxide on soil reaction. II: An apparatus for the electrometric titration of soil suspensions with carbonated water.* Soil Sci. 56: 63-65.

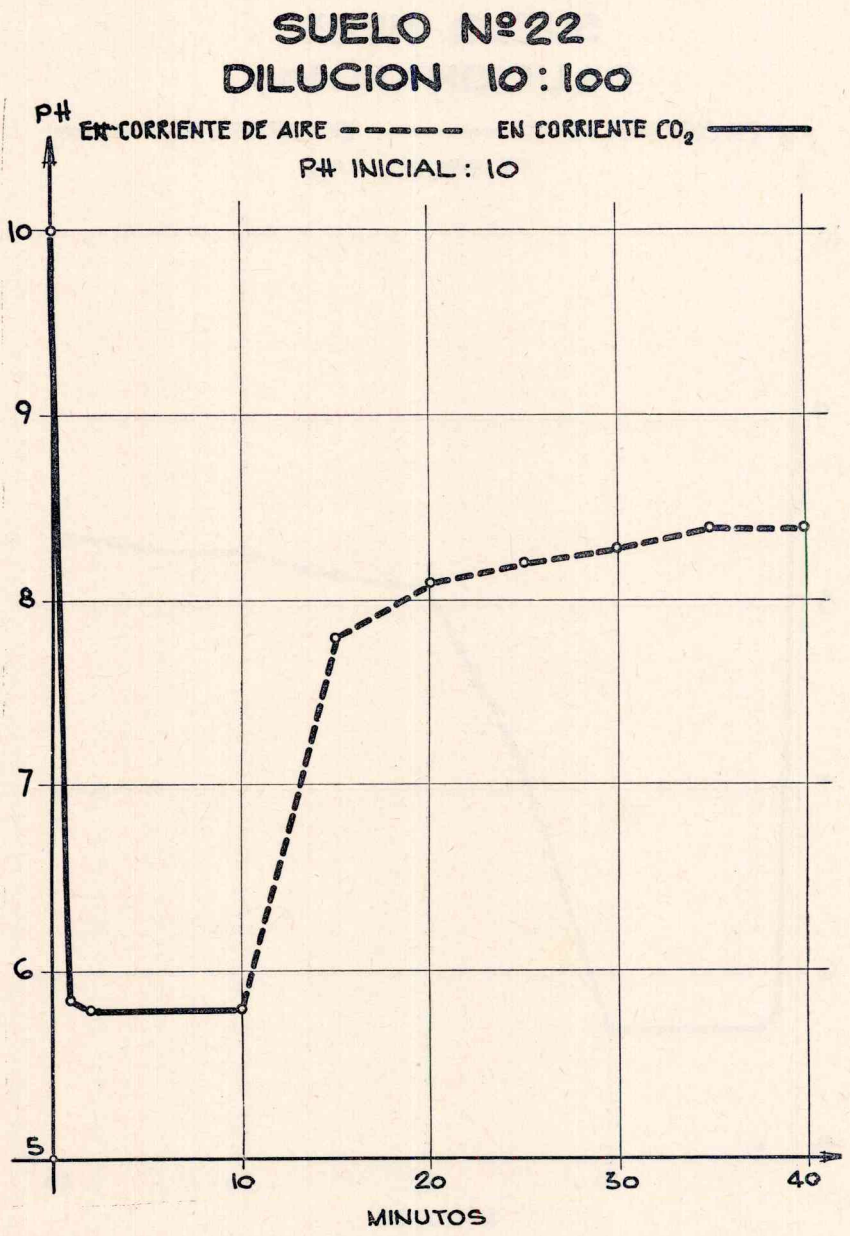
Molina, J. S. y Quant Bermúdez, J. (1962) *Las técnicas de determinación del pH en relación con los procesos biológicos en los suelos alcalinos.* Trabajo presentado a la II Reunión Argentina y Primer Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo. Mendoza (1962). En prensa.

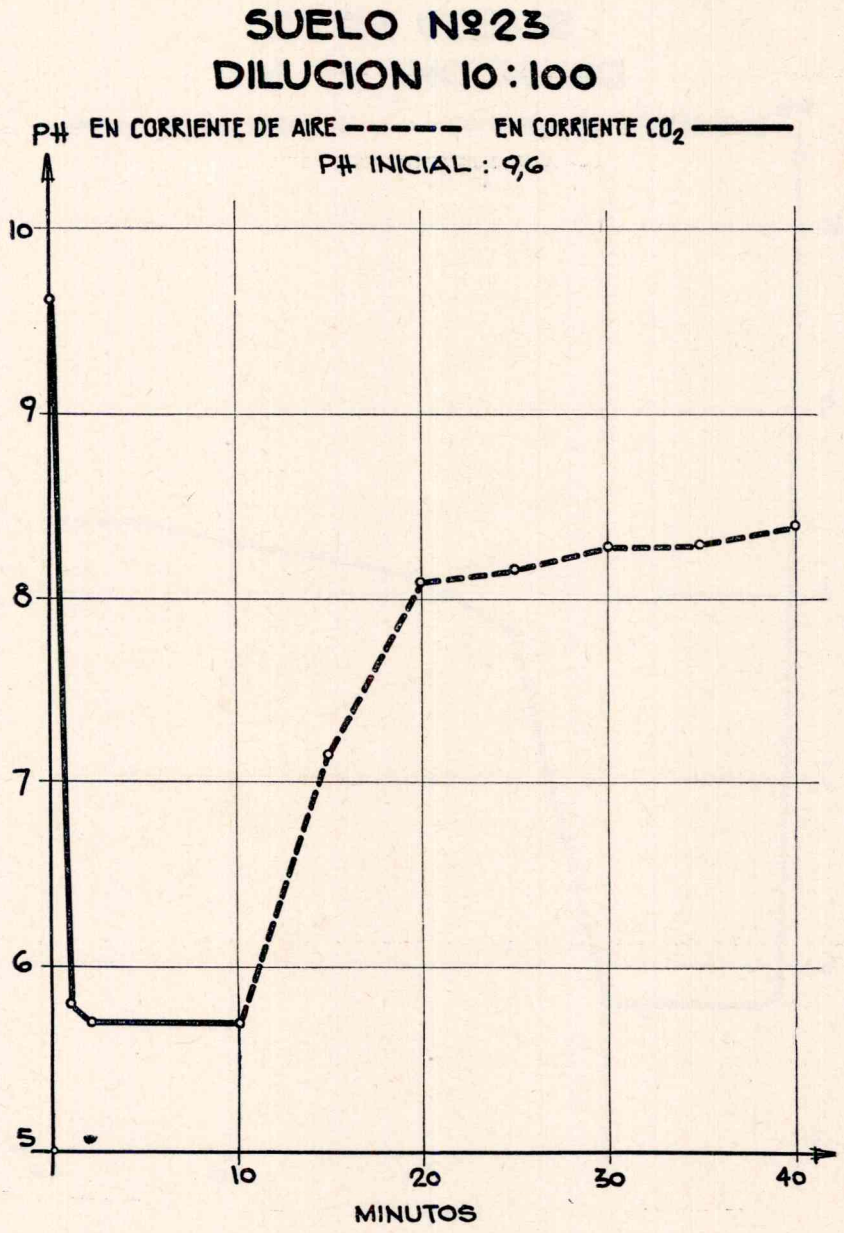
Mc George, W. T. (1935) *The measurement and significance of hidroxylion concentration in alkaline calcareous soils.* Ariz. Agric. Exp. Sta. Tech. Bull. 57.

Sauberán, C. y Molina, J. S. (1960) *Recuperación de suelos alcalinos.* Ciencia e Investigación 16: 337-338.

Whitney, R. S. and Gardner, R (1943) *The effect of carbon dioxide on soil reaction.* Soil Sci. 55:127-141.


SUELO Nº 21
DILUCION 10:100
P.H EN CORRIENTE DE AIRE ------ EN CORRIENTE CO_2 ——
P.H INICIAL : 10
10
9
8
7
6
5
10
20
30
40
MINUTOS

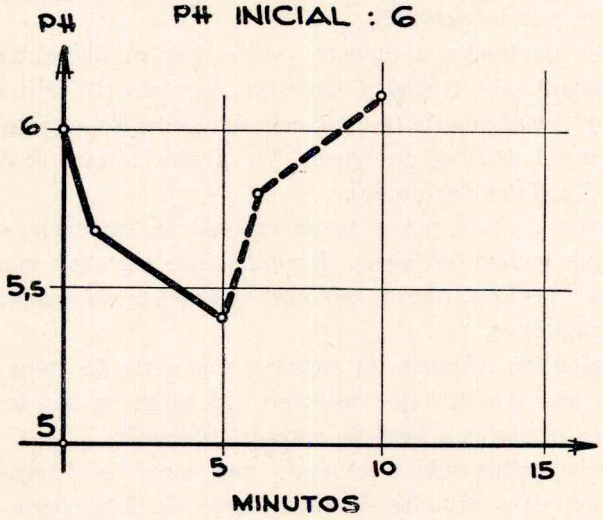

SUELO Nº22
DILUCION 10:100
PH
EN CORRIENTE DE AIRE
EN CORRIENTE CO_2
PH INICIAL: 10
10
9
8
7
6
5
10
20
30
40
MINUTOS


SUELO Nº23
DILUCION 10:100
pH EN CORRIENTE DE AIRE ----- EN CORRIENTE CO_2 ——
pH INICIAL : 9,6
10
9
8
7
6
5
10
20
30
40
MINUTOS

SUELO Nº8 (EL AGUAPE)
DILUCION 10 : 100

PROCEDENCIA : GONZALEZ CHAVEZ

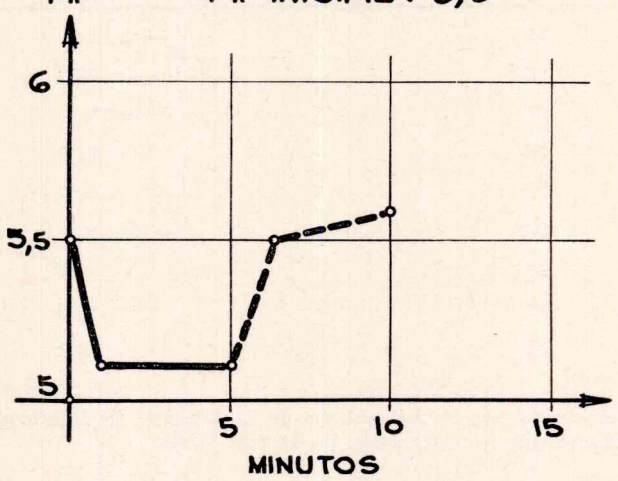
EN CORRIENTE DE AIRE ------ EN CORRIENTE CO_2 ——



SUELO Nº9 (EL AGUAPE)
DILUCION 10 : 100

PROCEDENCIA : GONZALEZ CHAVEZ

EN CORRIENTE DE AIRE------ EN CORRIENTE CO_2 ——



APÉNDICE

Los datos analíticos que se incluyen a continuación no forman parte del trabajo propiamente dicho y se han incluído únicamente para ofrecer una mayor información.

Han sido efectuados a nuestro pedido por el Laboratorio de la Dirección General de Suelos y Química Agrícola del Ministerio de Agricultura y Ganadería de la Provincia de Santa Fe, a cuyo Director de Valoración y Fertilidad de Suelos, Téc. Quím. Lázaro J. J. Priano, agradecemos los datos facilitados.

Los mismos forman parte de un trabajo en ejecución por dicho laboratorio que incluye asimismo detalladas descripciones edafológicas de los distintos perfiles, nuevos métodos de análisis empleados en estos suelos tan peculiares, etc.

En las planillas adjuntas se incluyen una serie de datos parciales de análisis de un suelo de bajo "salitroso", en el que se han implantado con todo éxito praderas a base de agropiro alargado.

Además ha colaborado efectuando una serie de determinaciones en algunas muestras aisladas el Laboratorio de Edafología Agrícola de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires, a cuyo profesor, Ing. Agrón. Mario J. A. Asunción, agradecemos los datos facilitados.

ALGUNOS DATOS ANALITICOS SOBRE LAS MUESTRAS EN ESTUDIO

Determinación de porcentaje de sales por conductimetría

Número Muestra	% de sales
21	— de 0,2
22	— de 0,2
23	— de 0,2
24	0,34
25	0,34
26	— de 0,2
27	0,57
28	0,53
29	0,31

Análisis efectuados en el Laboratorio de la Cátedra de Edafología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires.

DATOS ANALITICOS SOBRE ALGUNAS DE LAS MUESTRAS EN ESTUDIO

(Análisis realizados en la Cátedra de Edafología de la Fac. Agron. y Vet. Bs. Aires)

Número Muestra	Caracte-rísticas	Materia orgánica g % g	Nitrógeno g % g	Fósforo asimilable mg % g	Potasio asimilable mg % g
24	Estéril	0,90	0,151	46	31,20
25	Borde	1,78	0,241	46	31,20
26	Vegetación	2,50	2,250	49	36,82

Número Muestra	Capac. adsorbente m.e. % g	pH (potenc.) r = 1 a 1	Grado de alcalinización (PSI) %	Calcáreo (CO_3Ca) por gasometría g % g
24	21,6	10,5	52	8,10
25	24,3	9,9	25	6,22
26	29,3	8,7	12	2,43

Número Muestra	Granulometría (Datos en g % g)				Humedad equivalente g % g
	Arcilla	Limo	A. fina	A. gruesa	
24	14,10	26,35	55,50	3,44	26,7
25	17,00	32,20	47,29	3,01	31,4
26	16,70	22,90	55,70	4,12	25,1

METODOS USADOS:

Materia orgánica = Walkley - Smolik

Nitrógeno = Kjeldahl

Fósforo asimilable = Truog - Peach

Potasio asimilable = Morgan

Capacidad absorbente Aceto NH 4, pH 7,0, M 1

Grado de alcalinización = Valores Na (m.e./1.) y Ca — Mg (m.e./1) contenidos en el extracto a saturación.

Granulometría = Método de la pipeta.

Humedad equivalente = Bomba a 1 atmósfera.

D O N R O Q U E (PIROVANO)

PERFIL Nº 613

Muestra Nº	7043	7044	7045	7046	7047
Profundidad del horizonte en cm. ..	O-3	3-11	11-24	24-29	29-
Posición de la muestra en cm.	O-3	3-11	13,5-21	24-27	33-48

TEXTURA ELEMENTAL (CRITERIO INTERNACIONAL - gr % DE SUELO
DISPERSANTE HEXAMETAFOSFATO SODIO)

Muestra Nº	7043		7044		7045		7046		7047	
	I	A	I	A	I	A	I	A	I	A
Coloide (fracción menor de 1 micrón)	43		28		30,5		30		29	
Arcilla (fracción menor de 2 micrones	53,5		32,5		31,5		39		34,5	
Limo (fracción entre 2 y 20 micrones)	28,53	6,5	13,5	20,5	12,5	22,0	19	24,5	12	19
Arena fina (frac. entre 20 y 200 micrones) ...	5,1		38,4		37,2		25,6		29,1	
Arena gruesa (frac. entre 200 y 2.000 micrones) .	1,5		11,5		12,0		5,0		7,0	
CLASIFICACION AMERICANA	Tierra Arcillosa		Franco Arcillo Arenosa		Franco Arcillo Arenosa		Franco Arcillosa		Franco Arcillo Arenosa	

Muestra Nº	7043	7044	7045	7046	7047
CONSTANTES HIDRICAS					
Límite líquido Color (Seco)	10YR5/2	10YR5/1	10YR5/1	10YR6/1	10YR7/1
Límite plástico (Húmedo)	10YR4/1	10YR3/1	10YR3/1	10YR4/1	10YR5/2
EXTRACTO ACUOSO gr. % DE SUELO RELACION SUELO-AGUA: 1:4					
Cloruros (C 1)	0,023	0,020	0,057	0,097	0,091
Sulfatos (SO_4 '')	vest.	vest.	vest.	vest.	vest.
Nitratos (NO_3 ')	—	—	—	—	—
Carbonatos (CO_3 '')	0,019	—	—	0,022	0,022
Bicarbonatos (CO_3H ')	0,168	0,143	0,157	0,112	0,186
Calcio (Ca '')	0,004	0,004	0,003	0,014	0,004
Magnesio (Mg '')	vest.	vest.	vest.	vest.	vest.
Sodio y Potasio (Na + K)	0,090	0,066	0,095	0,136	0,143
TOTALES (residuo seco del extracto acuoso)	0,304	0,233	0,312	0,381	0,446
COMPLEJO DE INTERCAMBIO - MILIEQUIVALENTES POR 100 gr.					
Capacid. de intercambio (T)	33,4	13	24	25	19
Insaturación (T-S)	0,47	—	—	—	—
Calcio intercambiable (Ca)	17,87	10,39	11,63	8,72	6,23
Magnesio intercambiable (Mg)	13,50	5,0	7,17	7,65	7,05
Sodio intercambiable (Na)	11,83	7,76	14,25	12,18	12,65
Potasio intercambiable (K)	4,08	2,66	3,16	3,24	2,16
Capacidad de Int. (Suma)	47,75	26,81	36,21	31,79	28,09
DETERMINACIONES VARIAS - gr. % DE SUELO					
Materia orgánica	2,17	1,75	1,16	0,81	0,41
Humus	1,26	1,01	0,67	0,45	0,24
Nitrógeno total (N)	0,136	0,102	0,076	0,049	0,035
Relación (C/N)	9,26	9,90	8,81	9,18	6,86
Carbonatos (CO_3Ca)	8,92	2,09	5,3	10,18	16,51
Fósforo soluble en ác. cítrico 2 % (P_2O_5)	0,007	0,025	0,024	0,006	0,003
Potasio soluble en ác. nítrico N/25 (K_2O)	ND	ND	ND	ND	ND (*)
Calcio soluble en ác. nítrico (Ca O)	ND	ND	ND	ND	ND
pH Relación 1:2,5	8,9	9,5	9,5	9,6	9,7
pH Relación 1:1	8,6	9,1	9,1	9,1	9,4

(*) ND = No determ.

Campo "DON ROQUE"

PERFIL Nº 613 — Señor R. REPETTO

Nº de muestra	Profund. en cm.	Porcentaje de Saturación	CO_3Ca gr. %	CO_3Mg gr. %	Cationes extraídos m.e. %				Cationes en extracto saturación m.e. %				Cationes Intercambiables m.e. %				S m.e. %	T m.e. % M **	% Na
					Ca (*)	Mg (*)	K (**)	Na(**)	Ca	Mg	K	Na	Ca	Mg	K	Na			
7043	0-3	90,00	6,60	5,25	13,20	7,20	3,43	15,62	0,16	0,02	0,07	0,90	13,04	7,18	3,36	14,72	38,30	40,80	36,00
7044	3-11	79,00	1,76	1,21	6,30	3,30	2,81	12,00	0,04	—	0,03	0,86	6,26	3,30	2.78	11,14	23,48	24,20	48,50
7045	13,5 - 21	81,00	2,55	1,68	5,40	2,80	3,20	26,30	0,04	—	0,15	1,60	5,36	2,80	3,05	24,70	35,91	36,30	68,00
7046	24-27	100,00	6,65	5,20	4,30	2,00	3,12	34,37	0,37	—	0,60	2,94	3,93	2,00	2,52	31,43	39,88	40,70	77,20
7047	33-48	100,00	8,30	7,39	2,90	0,90	1,87	28,43	0,09	—	0,80	4,78	2,81	0,90	1,07	23,64	28,42	31,20	75,70

(*) Extraído con cloruro de sodio normal.

(**) Extraído con Acetato de Amonio normal pH 7.

REVISTA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA DE BUENOS AIRES
16 (Entrega II): p. 27-62 Dic. 1965

La bacteriosis de la soja en la Argentina (*)

POR

ESTHER ATLAS DE GOTUZZO, Ing. Agr. (**)

Antecedentes

El cultivo de la soja (*Glycine max* Merril) ofrece en nuestro país brillantes perspectivas. Con el objeto de implantarlo, se han efectuado varios intentos en distintas localidades del interior del país. Existe la posibilidad de su instalación definitiva y en gran escala.

Dada la importancia que tiene el conocimiento de las enfermedades, reconocidas como factores negativos en la producción y rinde de las cosechas, se ha encarado, en este trabajo, el estudio de algunas enfermedades de la soja, las causadas por bacterias.

En nuestro país es escasa la bibliografía nacional, con respecto al cultivo en general y sobre todo en lo referente al estudio y determinación de agentes parasitarios causales de enfermedades, bacterianas, en especial.

En 1941, el Ing. Agr. E. F. Shultz (33), en la *Memoria Anual de la Revista Industrial y Agrícola de Tucumán*, cita una enfermedad de origen bacteriano (entre otras razones), como causante de los resultados negativos obtenidos en el cultivo de soja, en dicha provincia.

Más recientemente, el Ing. Agr. F. J. Llobet (31), desarrolló como becado del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas y bajo la dirección de la Profesora Titular, Ing. Agr. Clotilde

(*) Trabajo realizado en el Departamento de Patología Vegetal, orientación Fitopatología, con fondos de la Comisión Administradora del Fondo de Promoción de la Tecnología Agropecuaria. Convenio Nº 108, entre la Facultad de Agronomía y Veterinaria, Cátedra de Fitopatología y el INTA. Publ. Nº 6.
Entregado para su publicación en Agosto 1964.
(**) Jefa de Trabajos Prácticos de Fitopatología.

JAUCH, un trabajo sobre "Enfermedades parasitarias de la soja (*Glycine max* Merril) en la Argentina".

Estos son, en realidad, los únicos antecedentes existentes en el país, sobre bacteriosis de la soja.

En el extranjero, en cambio, la bibliografía es amplia, sobre todo en los Estados Unidos, donde el cultivo de soja ocupa el segundo lugar en importancia, después del maíz. Estos antecedentes se remontan al año 1905, en que HEALD (20), hace por primera vez mención del tizón. Más tarde, en 1911 y 1916, SMITH, E. F. (34) y CLINTON (7), respectivamente, relacionan la enfermedad con la bacteria. [citados por WOLF (38)].

En 1917, JOHNSON, A. G. y COERPER, F. M. (26) se refieren también al tizón, logrando aislar el microorganismo causal. Luego, en forma casi paralela, esta última autora (8) y WOLF (38) en 1920, hacen una descripción detallada de la bacteria.

En Japón, en 1921, TAKIMOTO (35) y MIURA (32), [citados por WOLF (37)], describen una bacteriosis en soja, si bien no llegan a determinar el agente etiológico.

En 1922, HEDGES, F. (21) y en 1924 WOLF, F. A. (37), estudian detalladamente la bacteria causante de la pústula bacteriana.

Respecto al "wildfire" o quemazón, los primeros antecedentes se encuentran en Estados Unidos a partir de 1945 [(ALLINGTON, W. B. (1)], si bien esta enfermedad fué ya reconocida en soja, en dicho país dos años antes [JOHNSON. H. N. y CHAMBERLAIN, D. W. (27)].

Desde entonces se han establecido claramente, la existencia de tres enfermedades de origen bacteriano sobre soja, a saber: 1) *pústulas bacteriana* ("bacterial pustule"), cuyo agente causal es *Xanthomonas phaseoli var. sojense* (Hedges) Starr & Burk. 2) *tizón bacteriano* ("bacterial blight"), causado por *Pseudomonas glycinea* Coerper, y 3) *quemazón* ("wildfire"), producido por *Pseudomonas tabaci* (Wolf & Foster) Stevens.

La primera enfermedad se encuentra también en poroto (*Phaseolus vulgaris),* la segunda es específica de soja *(Glycine max),* mientras que la tercera es común al tabaco (*Nicotiana tabacum*).

El presente trabajo, es el resultado de cuatro años de observaciones consecutivas de cultivos de soja, de diferentes variedades y en diversas localidades del interior del país.

En dichas localidades, en las estaciones experimentales del INTA, se llevan a cabo, conjuntamente con la Ing. Agr. DELIA DOCAMPO (*) y como parte integrante del Plan Nº 108 del Convenio con CAFPTA, ensayos de comportamiento varietal y susceptibilidad a las distintas enfermedades de soja. El material en estudio provino de estas estaciones: Cerro Azul (Misiones), R. S. Peña (Chaco), Los Cerrillos (Salta), Manfredi (Córdoba), Tezanos Pintos (Entre Ríos), Pergamino (Pvcia. de Buenos Aires), (**) y J. J. Gómez (Río Negro).

Además, se estudió el material enfermo de los ensayos de soja llevados a cabo en la Facultad.

CAPITULO I

PÚSTULA BACTERIANA

Huéspedes

Es una enfermedad que ataca a la soja (*Glycine max*) y al poroto (*Phaseolus vulgaris*). JONES, J. P. (28), cita un gran ataque en una maleza: *Brunnichia cirrhosa* Gaertn. la que desde 1959 se considera como huésped natural de *Xanthomonas phaseoli* var. *sojense,* lo mismo que *Dolichos biflorus* L. Por otra parte, se consiguió infectar artificialmente: *Phaseolus lunatus* y *Dolichos lablab.*

En soja se ha encontrado en las siguientes variadades: Hood, Dorman, Hill, Clark, FAV 24, FAV 30, Shelby, Hawkeye, J. E. W. 45, Scott, y Lee. Es decir, prácticamente en todas las variedades cuyo cultivo se está ensayando en las distintas localidades del interior del país.

Respecto a resistencia varietal, la bibliografía (36), cita a Lee como resistente; sin embargo, se ha observado ataque en esta variedad.

El material enfermo estudiado, corresponde a las excicatas números: 510, 516, 522, 523, 528, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537 y 538, de la Cátedra de Fitopatología, Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires.

Difusión

Se encuentra difundida en Misiones, Chaco, Río Negro, Tucumán, Santa Fe, Entre Ríos y Salta, si bien la intensidad de ataque está

(*) Ayudante Primero de Trabajos Prácticos.

(**) Se deja constancia de nuestro agradecimiento al Ing. Agr. G. Seminario, Técnico encargado del cultivo de soja en la Estación Experimental de Pergamino, por la ayuda que significó el envío periódico de material enfermo.

condicionada a factores varietales y ambientales. Así, se ha comprobado menos ataque de esta enfermedad en Salta y Río Negro, que en las otras localidades.

Sintomatología

A) *Síntomas macroscópicos*

Aparecen sobre todo en las hojas, aunque puede atacar también legumbres y semillas. En las hojas, los primeros síntomas son pequeñas manchas amarillo-verdosas que rodean un punto central de color castaño rojizo, presentándose estos síntomas en mayor cantidad y con mayor evidencia, en la cara superior de las hojas. (Fig. 1, A.)

Estos puntos se transforman luego, a medida que la enfermedad avanza, en pequeñas elevaciones, que terminan por formar verdaderas pústulas. El nombre común de "pústula bacteriana" que se da a esta enfermedad, proviene de esta característica macroscópica.

Las pústulas se encuentran también abundantemente distribuídas en la cara inferior de las hojas. (Fig. 1, C y D.)

Precisamente, la presencia de estas pústulas y la ausencia de un halo de aspecto húmedo y de un exudado bacteriano, permite diferenciar esta enfermedad del tizón bacteriano. No obstante, como se verá luego, los síntomas de ambas enfermedades son semejantes, sobre todo en los estados iniciales y es fácil confundirlas.

Si las condiciones ambientales son propicias y la variedad es susceptible, las manchas de las hojas confluyen, formando grandes áreas irregulares, de color castaño, dispuestas sobre todo en los bordes. El tejido atacado, necrosado, cae y la hoja aparece como si estuviera desgarrada. (Fig. 2, A.)

Si la infección es leve, las lesiones quedan circunscriptas a pequeñas manchas y pústulas, distribuídas en la superficie foliar.

Cuando se produce el ataque en legumbres, éstas aparecen con pequeñas manchas de color castaño rojizo. Síntomas similares se observan en las semillas.

B) *Síntomas microscópicos*

En cortes histológicos de hojas, en las zonas donde se manifiestan los síntomas, se comprueba la presencia de células de mayor tamaño que las normales (hipertrofia). Esta observación permite confirmar lo establecido por Wolf (37).

Etiología

El microorganismo, reconocido como causal de la pústula bacteriana es *Xanthomonas phaseoli var. sojense* (Hedges) Starr & Burk., cuya sinonimia es la siguiente:

Phytomonas phaseoli var. sojense (Hedges) Burk.
Bacterium phaseoli var. sojense Hedges
Pseudomonas glycines (Nak.) Elliot
Phytomonas glycines (Nak.) Mag.

Aislamientos

Con el objeto de llegar a obtener cultivos puros de la bacteria, imprescindibles para el posterior estudio de la misma, se realizaron numerosos aislamientos: *a*) de hojas y *b*) de legumbres y semillas.

a) Aislamientos de hojas

Material

Se partió de material fresco, proveniente de los cultivos de soja de la Facultad, de Pergamino, y de las distintas Estaciones Experimentales del interior del país (Misiones, Chaco, Córdoba, Río Negro, Salta y Entre Ríos).

También se utilizó, para efectuar los aislamientos, material seco, de herbario, de 8-9 meses.

Las variedades empleadas fueron: Scott, Hood, FAV 24, FAV 30, Hill, Clark, J. E. W. 45 y Hawkeye.

Método

Para realizar los aislamientos se siguió el método clásico de maceración de los tejidos. Se colocaron pequeños trozos de hojas atacadas, en un mortero estéril, se agregaron 2-3 cm^3 de caldo de extracto de carne estéril y con la ayuda de la maza del mortero, se procedió a triturar el material. Luego se pasó el contenido del mortero (líquido y tejido desintegrado) a un tubo estéril, donde se lo dejó 1-2 horas, a fin de facilitar la difusión de las bacterias en el caldo.

También se obtuvieron buenos resultados, reemplazando este medio de cultivo, simplemente, por agua destilada estéril.

Al cabo de dicho término, se procedió a la siembra de las cajas de

Petri, usando como medio de cultivo, agar de papa glucosado, al 2 %, pH. 6,8-7 (1).

Con el objeto de obtener varias colonias bien separadas, para facilitar su posterior purificación, se ensayaron distintos métodos de siembra:

1) La suspensión de bacterias se sembró con pipeta Pasteur, dejando caer, una gota, cada vez, 5-6 veces, sobre la superficie de la caja.

2) Con dos estrías paralelas entre sí y una perpendicular, formando una U.

3) Cubriendo toda la caja con estrías en zig-zag.

4) Con 6 estrías paralelas, en dos cajas consecutivas.

Empleando el método 1) se encontró el inconveniente de que de cada gota desarrollaban varias colonias, a veces superpuestas, lo que dificultaba su aislamiento. En cambio, resultó ser ventajoso, cuando el material era pobre en bacterias.

Con el método 2) se obtuvieron colonias separadas, pero para ello había que utilizar 4 ó 5 cajas de Petri para cada aislamiento, lo que implicaba mucho gasto de material.

Utilizando el método 3). se observaron las mismas ventajas e inconvenientes que con el método 2).

Con el sistema 4), se lograron los mejores resultados: colonias bien separadas y si el material era pobre en bacterias, éstas se desarrollaban bien en las primeras estrías de la primer caja.

A partir de estos ensayos preliminares, todos los aislamientos posteriores, de hoja, se efectuaron siguiendo este método.

Para ello, se sumergió una espátula de *Winogradsky* en la suspensión bacteriana, cuidando de no tocar las paredes del tubo al retirarla, a fin de asegurarse una buena cantidad de material. Con la espátula así cargada se efectuaron 6 estrías paralelas, en las dos cajas de Petri consecutivamente.

La incubación se efectuó a 28-30°C, apareciendo las primeras colonias entre el primer y tercer día.

Al cabo de dicho término, se procedió a efectuar la purificación de las colonias, utilizando siempre como medio de cultivo agar de papa glucosado al 2 %, pH. 6,8-7.

(1) Este medio de cultivo se empleó para todos los aislamientos y purificaciones posteriores, pues resultó adecuado para estos fines.

Resultados

En casi todos los aislamientos efectuados, se obtuvieron dos tipos de colonias: unas de color amarillo y otras blancas, cremosas. El estudio posterior de las características culturales y morfo-fisiológicas de las bacterias de las distintas colonias, permitió establecer su ubicación sistemática: *Xanthomonas phaseoli var. sojense* y *Pseudomonas glycinea*, respectivamente. Confirmándose así, los datos bibliográficos sobre asociación de estas dos bacterias. [(GRAHAM, J. H. (18)].

Cabe consignar, además, que se consiguieron aislar algunas cepas, de material seco de 8-9 meses. Este hecho coincide con las observaciones de HEDGES, F. (21) y GRAHAM, J. H. (17), sobre la persistencia de la bacteria en restos vegetales (hojas, legumbres), secos.

B) AISLAMIENTOS DE LEGUMBRES Y SEMILLAS

Material

Se partió de semillas y legumbres de las variedades Clark e Hill, provenientes de la última cosecha. Se seleccionaron semillas con tegumento manchado y otras aparentemente sanas. También se empleó la variedad Lee, proveniente de la anteúltima cosecha y que había demostrado una disminución de su poder germinativo (1).

Método

Se separó el tegumento del albumen de las semillas y pequeños trozos del mismo, se sembraron directamente en cajas de Petri, conteniendo agar de papa glucosado, con las debidas condiciones de asepsia.

Por otra parte, los trozos de albumen se desinfectaron rápidamente, pasándolos por alcohol de 60°, bicloruro de mercurio al 1/oo, lavándolos luego en abundante agua destilada estéril.

El material así tratado, se sembró en igual forma que el anterior.

Con las semillas de la variedad Lee, se procedió siguiendo un criterio distinto, dado que lo que se buscaba era, no solamente aislar la bacteria, sino también todo otro microorganismo que incidiera en la disminución del poder germinativo.

Con este fin, se sembraron 20 semillas en macetas conteniendo arena estéril. Se llevaron al invernáculo, donde se mantuvieron por espacio de 20 días.

(1) Estos aislamientos forman parte del trabajo sobre: "Factores que inhiben la germinación de semillas de soja", llevado a cabo conjuntamente con la Ing. Agr. D. Docampo.

Al cabo de dicho tiempo, la semillas demostraron poseer un poder germinativo de sólo 45 %. De las semillas no germinadas se procedió a efectuar los aislamientos. Para ello, se cortaron directamente pequeños trozos de semillas, que se sembraron en las cajas de Petri, con agar de papa glucosado. En algunos casos esta operación resultó algo difícil, puesto que muchas semillas aparecían completamente desintegradas.

Resultados

No se consiguió aislar la bacteria de las semillas de la variedad Hill, en ningún caso, ni de tegumento, ni del albumen, de las semillas manchadas o no manchadas. En cambio, se obtuvieron resultados positivos cuando se partió de semillas de la variedad Clark, consiguiéndose aislar el microorganismo, tanto del tegumento como del albumen, de las semillas manchadas. En el primer caso (del tegumento), se aislaron también, como se verá luego, colonias blancas, cremosas, correspondientes a *Pseudomonas glycinea.*

También en el caso de las semillas de la variedad Lee, se obtuvieron ambas bacterias, además de diversos hongos.

Cuando los aislamientos se efectuaron directamente de vainas los resultados fueron negativos.

Caracteres morfo-fisiológicos y culturales

De todas las colonias aisladas, que presentaban las características de su color amarillo, se efectuó la coloración de Gram. Se continuó con el estudio únicamente, de cepas que resultaron ser Gram negativas.

En el cuadro 1, figuran resumidas, las características morfo-fisiológicas y culturales de las tres bacterias aisladas de soja (*Xanthomonas phascoli var. sojense, Pseudomonas glycinea y Pseudomonas tabaci*).

Otros caracteres

Longevidad

Se trata de una bacteria que mantiene su vitalidad durante varios meses. En efecto, sembrada en tubos de agar de papa glucosa, al 2 %, en estría, mantenida a temperatura ambiente, después de 6 meses aún se conserva viable.

Hedges, F (21), menciona que en heladera se conserva un año.

Virulencia

Respecto a esta propiedad, se ha podido comprobar que las bacterias mantienen su virulencia durante mucho tiempo. Se obtuvieron resultados positivos, en inoculaciones efectuadas con cepas aisladas 12 meses antes.

Resistencia a la desecación

Es una bacteria bastante resistente a la desecación. Según se ha visto anteriormente, se han conseguido aislar varias cepas, de material seco de herbario (hojas), después de 9 meses de recolectado.

Esta condición le permite invernar en las hojas enfermas caídas en el suelo. [GRAHAM (17)].

INOCULACIONES

Simultáneamente con el estudio de las características culturales y fisiológicas y con el objeto de verificar la patogenicidad de las cepas aisladas, se procedió a la inoculación de las mismas. Para ello, se dividió el trabajo en dos partes, efectuándolo *a*) en plantas de soja y *b*) directamente sobre semillas.

a) INOCULACIONES EN PLANTAS DE SOJA

Material

Se utilizaron plantas jóvenes, de 3-4 semanas de edad, desarrolladas en macetas, en invernáculo. Las variedades empleadas fueron: Scott, Lee, Hood, Ogden, y Dorman.

Método

Previamente a la inoculación, las plantas permanecieron 48 horas sobre una terrina con agua y dentro de una cámara húmeda, en el invernáculo.

En estas mismas condiciones se mantuvieron luego de efectuada la inoculación, por espacio de 4-5 días o más, según los casos, con el objeto de mantener las plantas en un ambiente saturado de humedad.

La bibliografía: ALLINGTON, W. B. (2), JOHNSON, E. (23, 24, 25) y CLAYTON, E. E. (5), da mucha importancia al estado de "water congestion" o "water soaking" de los tejidos como condición indispensable para la penetración de las bacterias.

Manteniendo las plantas en ese ambiente de humedad relativa alta (entre el 90 y 100 %) se aseguró, al menos en parte, esa imprescindible turgencia de los tejidos. En esta forma, tanto las raíces como la parte aérea, permanecieron en un ambiente de casi saturación de humedad, durante el período de incubación.

Como por otra parte, también es importante el grado de apertura de los estomas para la penetración del patógeno, se efectuaron la mayoría de las inoculaciones, en las horas de mayor luminosidad ambiente. [ALLINGTON, W. B. (2)].

Cuando esta condición no fué posible conseguirla naturalmente, se recurrió a una fuente luminosa artificial, dejando las plantas, luego de la inoculación, por espacio de una hora, cerca de una lámpara eléctrica.

Para efectuar las inoculaciones, se utilizaron cultivos bacterianos jóvenes, de 24-48 horas, desarrollados en cajas de agar de papa glucosado, al 2 %. La siembra se efectuó en superficie, a fin de obtener una buena cantidad de inóculo.

Las inoculaciones se realizaron siempre sobre las hojas jóvenes, en lo posible, en los primeros 2-3 foliolos.

Se probaron distintos métodos, con el objeto de encontrar alguno que realmente diera resultado positivo, a saber:

1) Se pulverizaron directamente las hojas con un pulverizador Vilbis, conteniendo la suspensión bacteriana.

2) Se sumergieron las hojas a inocular, en una suspensión de bacterias, durante 4-5 minutos.

3) Se colocaron gotas de agua sobre la superficie foliar y en ellas, con la ayuda de un ansa, se depositó abundante material bacteriano.

4) Previa a la inoculación, se pulverizaron las hojas abundantemente con agua, mediante un atomizador y luego suavemente, con cuidado y utilizando un ansa cargada con el cultivo, se esparció éste, sobre distintas partes de la hoja.

No se ensayó ningún método de inoculación produciendo heridas porque la bibliografía respectiva establece claramente su inutilidad.

En los cuatro métodos descriptos anteriormente, antes de la inoculación, se procedió a frotar las hojas suavemente con los dedos, a fin de eliminar la vellosidad de las mismas, muy abundante, por otra parte, en algunas variedades y que podría constituir una barrera natural para la penetración de las bacterias.

Las inoculaciones se efectuaron en la cara superior de las hojas,

en la inferior o en ambas a la vez. No se encontraron diferencias en cuanto a la aparición de síntomas, entre las tres formas.

En todos los casos se llevaron los testigos correspondientes.

Las plantas inoculadas y los testigos, se dejaron, como se ha visto anteriormente, durante varios días (hasta la aparición de los primeros síntomas), en cámara húmeda, en el invernáculo, cuya temperatura osciló entre 25º C y 35º C.

Resultados

De los cuatro métodos ensayados, con el único que se obtuvieron resultados positivos, fué con el 4. Por lo tanto, en todos los trabajos posteriores, de inoculación, se empleó únicamente este método.

Los primeros síntomas aparecieron a los 5-6 días, en forma de pequeñas manchas acuosas al principio, circulares, que luego se hacen castañas y esparcidas por la superficie foliar. En algunos casos, se observó, además, oscurecimiento de la nervadura principal. Cuando se empleó luz artificial con el objeto de facilitar la apertura de los estomas, los síntomas fueron menos evidentes.

De las hojas inoculadas, que presentaban síntomas de ataque de pústula bacteriana, se efectuaron reaislamientos, siguiendo las normas expuestas en el capítulo respectivo.

Los resultados de estos aislamientos fueron colonias de bacterias cuyas características morfo-fisiológicas y culturales, eran semejantes a las de las inoculadas.

Se dió cumplimiento, en esta forma, a lo establecido por los postulados de Koch.

B) INOCULACIONES EN SEMILLAS

Material

Se emplearon semillas de las variedades: Hill, Lee, y Clark.

Las cepas a inocular provenían de las aisladas de semillas.

Método

Se prepararon varias macetas con arena estéril. En cada una de ellas se sembraron 20 semillas inoculadas. La inoculación se efectuó empapando las semillas con una suspensión abundante de bacterias, en agua destilada estéril, de un cultivo de 48 horas.

Una vez mojadas, se sembraron las semillas y luego se las regó

con el resto de la suspensión, a fin de asegurarse una buena cantidad de inóculo.

Cada variedad se inoculó con las cepas aisladas anteriormente de esa misma variedad.

Se llevaron los testigos correspondientes, sembrando semillas sin inocular y mojadas con agua destilada estéril.

Todas las macetas se obtuvieron en invernáculo, por espacio de 15 días.

Resultados

Al cabo de dicho término se sacaron de las macetas las semillas que no habían germinado.

Se observó que muchas de ellas estaban cubiertas por una mucosidad amarillenta.

Efectuados los aislamientos correspondientes, se comprobó la existencia de cepas bacterianas de características similares a las inoculadas.

Se cumplieron en esta forma los postulados de Koch.

Patogenia

Penetración

La bacteria penetra por los estomas. Esta característica está citada en la bibliografía [(Wolf, F. A. (37)] y en el presente trabajo se ha podido confirmarlo, ya que para efectuar las inoculaciones, según se vió en el capítulo correspondiente, no fue necesario producir heridas.

Una vez que penetra, la bacteria ocupa completamente la cavidad subestomática, llegando a los espacios intercelulares, a través de los cuales avanza.

Incubación.

Se puede establecer que varía según las condiciones ambientales. En general, en invernáculo, a los 5-6 días, aparecen los primeros síntomas y éstos se hacen más netos, recién a partir del octavo al décimo día.

Propagación

El organismo causal de la pústula bacteriana persiste y se propaga fácilmente por la semilla. Algunos de los aislamientos obtenidos provenían de semillas de más de un año de cosechadas. Además, debido a su resistencia a la desecación y a la conservación de su virulencia,

subsiste en las hojas enfermas caídas y en los restos de las plantas (hojas, legumbres), que quedan en el campo, luego de la cosecha. En esta forma, puede llegar a invernar, para luego producir las primeras infecciones en la próxima siembra, [GRAHAM, J. H. (17)].

CONDICIONES PREDISPONENTES

Los veranos calurosos, acompañados de lluvias, favorecen la aparición y difusión de la enfermedad. El golpeteo de las gotas de lluvia contra las hojas, parece ser un factor importante, sobre todo para la producción de infecciones secundarias.

En los cultivos de Misiones, correspondientes a las cosechas 1962/63 y 1963/64, se ha podido comprobar poco ataque de esta enfermedad, comparado con el del año 1961/62, año que fue particularmente lluvioso. En cambio, la siembra efectuada a mediados de noviembre de 1963, no recibió ninguna lluvia hasta fines de marzo de 1964. La intensa sequía soportada por el cultivo, hizo que solamente en algunas pocas hojas de algunas plantas, se observaran síntomas de pústula bacteriana.

Efectos similares produjo la sequía del verano 1962/63.

DAÑOS

Si bien no se ha llegado a establecer una escala precisa de daños, difícil, por otra parte, de confeccionar, dada la común superposición de los síntomas de la pústula y el tizón, se ha podido establecer que todas las variedades ensayadas son susceptibles al ataque de esta bacteria.

Se trata de una enfermedad, que si bien es espectacular (en ataques graves prácticamente no queda hoja sin manchas), no llega a matar la planta.

Su importancia ocurre cuando ataca legumbres y semillas, en cuyo caso puede producir mermas importantes en las cosechas.

HARTWING, E. F. y JOHNSON, H. W. (19), comparando líneas susceptibles y resistentes, concluyen que el rendimiento de las primeras es inferior al de las segundas; referente al tamaño de las semillas, las diferencias son significativas y en cuanto al contenido proteico de las mismas, es mayor el de las líneas resistentes.

Finalmente, se puede establecer que de las tres bacteriosis de la soja: pústula bacteriana, tizón bacteriano y quemazón, la primera es la más grave.

CAPITULO II

Tizón bacteriano

El tizón bacteriano, es una enfermedad común en los cultivos de soja y recibe ese nombre para diferenciarlo de otros tizones, como el de los brotes, producido por un virus del tabaco, el de los tallos y legumbres: *(Diaporthe phaseolorum var. sojense* (Lehm. Wehm.) y el del tallo y cuello (*Macrophomina phaseoli* (Maubl.) Ashby) y *Sclerotinia bataticola* Taub.

Huéspedes

Se halló esta enfermedad, prácticamente, en todas las variedades de soja observadas. Se puede decir que no existe variedad resistente, si bien algunas como la FAV 30 y Hawkeye parecen ser menos susceptibles. Esta última está citada en la bibliografía como poco susceptible (34). En los ensayos llevados a cabo en Río Negro, se ha comportado como tal. El material estudiado corresponde a las excicatas números: 511 al 515, 518, 520, 524, 525, 526, 539 a 544, de la Cátedra de Fitopatología.

Difusión

Al igual que la pústula bacteriana, se encuentra distribuída en todas las zonas donde se cultiva soja. Se la ha encontrado en Misiones, Salta, Chaco, Entre Ríos, Santa Fe, Córdoba, Pcia. de Bs. As., y en los cultivos de la Facultad.

Sintomatología

A) *Síntomas macroscópicos*

La enfermedad suele aparecer en el cultivo en cualquier momento de su desarrollo, desde la aparición de los cotiledones.

Los síntomas más importantes se manifiestan en las hojas, si bien puede afectar también tallos, legumbres y cotiledones. En éstos, los síntomas son al principio manchas redondeadas, algo más oscuras que el tejido normal, las que luego, a medida que la lesión va avanzando, se oscurecen aún más. Estas manchas pueden llegar a dañar el hipocótile y producir así la muerte de la plántula.

En las hojas aparecen, al principio, manchas angulares, irregulares, amarillas. A veces el centro tiene aspecto húmedo, translúcido y

está rodeado por un estrecho halo amarillento. Luego, a medida que el tejido afectado se va secando y necrosando, las manchas van tomando un color castaño que puede llegar hasta el negro. (Fig. 2: B, C y D.) A medida que estas lesiones se agrandan, se hacen confluentes y la superficie foliar atacada termina por caer.

Si la planta ha soportado períodos de lluvias o vientos fuertes, las hojas toman finalmente un aspecto como si hubieran sido desmenuzadas.

Si el ataque es muy importante, en variedades susceptibles, puede llegar a producirse defoliación.

Respecto a la presencia del halo amarillento alrededor de las manchas, cabe consignar que no siempre se lo ha encontrado, consiguiéndose aislar el agente causal (*Pseudomonas glycinea*), de hojas manchadas, con y sin halo.

Este hecho confirma la comprobación de CHAMBERLAIN (13), de que la capacidad de formar halo varía con las diferentes cepas, aisladas en distintas localidades. Además, este mismo autor, establece que el ancho del halo está condicionado a la temperatura de incubación. Así, a 10°C, el halo llega a medir entre 5 y 7 mm, y se reduce a sólo 2 mm cuando la temperatura se eleva entre 18, 5° C y 28° C, después de 12 días de incubación.

Por lo anterior, no puede considerarse al halo, un síntoma típico de la enfermedad. Por esta razón, los síntomas de las dos enfermedades (pústula y tizón bacterianos) resultan muy semejantes y fáciles de confundir.

En cuanto a los síntomas que pueden presentar ramas, pecíolos y legumbres, están constituídos por pequeñas manchas castañas a negras.

B) *Síntomas microscópicos*

Se observa destrucción y necrosis de las células atacadas.

Respecto al *signo* de la enfermedad, si bien no siempre aparece, cuando esto ocurre, lo constituyen pequeñas cantidades de exudado bacteriano, de color grisáceo, acumulado sobre las lesiones. Este signo, aparece también en la cara inferior de las hojas, en correspondencia con las manchas.

Este exudado se hace más notable, si se dejan las hojas en cámara húmeda durante algunas horas [COERPER, F. M. (8)]. Cuando estas hojas se dejan luego secar al aire, quedan en el lugar del exudado, unos pequeños gránulos oscuros.

En pecíolos, ramas y legumbres, puede aparecer también, según el mismo autor, un signo similar al de las hojas.

En el material estudiado, las veces que se ha encontrado este signo, fue siempre sobre hojas.

Etiología

El agente causal del tizón bacteriano es *Pseudomonas glycinea* Coerper, cuya sinonimia es la siguiente:

Bacterium glycineum Coerper
Bacterium sojae Wolf

Aislamientos

Como en el caso de la pústula bacteriana, los aislamientos se efectuaron de hojas, pecíolos y semillas.

a) Aislamiento de hojas y pecíolos

Respecto al *material y método,* fueron semejantes a los detallados al describir la pústula bacteriana.

Resultados

Según lo establecido anteriormente, casi siempre se han obtenido juntas colonias amarillas correspondientes a *Xanthomonas phaseoli var. sojense* y otras blancas, de *Pseudomonas glycinea.*

En algunos casos, en que las manchas eran aún incipientes, al efectuar el aislamiento, se consiguieron obtener separadamente y solas, las colonias de *Pseudomonas glycinea.*

b) Aislamientos de semillas (1)

Material

Se partió del tegumento manchado y no manchado de semillas de las variedades Hill y Clark correspondientes a la última cosecha y de las variedades Lee y Ogden, de la anteúltima cosecha.

Se introdujo, además, un nuevo material: semillas de la variedad Lee, que habían sido previamente tratadas con "*Spergon*" (tetracloro-benzo quinona 96 %), al 1 °/₀₀. Este tratamiento había sido efectuado en dos oportunidades distintas: 1º) 6 meses antes de la siembra previa al aislamiento, y 2º) en el momento de dicha siembra.

(1) Corresponde la misma observación de la pág. 33.

Método

Fue similar al descripto en el capítulo correspondiente a la pústula bacteriana.

Resultados

Cuando se trabajó directamente con el tegumento de las semillas, tanto manchadas como no manchadas, se obtuvieron colonias blancas, cremosas, correspondientes a *Pseudomonas glycinea*, además de otros microorganismos como *Xanthomonas phaseoli var. sojense*, *Cephalothecium* sp., *Fusarium* spp. y *Alternaria* spp.

Los mismos resultados se obtuvieron cuando se efectuaron los aislamientos de las semillas tratadas con *"Spergon"* en el momento de la siembra.

En cambio, en las semillas tratadas con el funguicida 6 meses antes de dicha siembra, sólo persistió *Pseudomonas glycinea.*

OTROS CARACTERES

Longevidad

Las cepas aisladas, se mantuvieron viables al cabo de 5 meses de conservación, a temperatura ambiente y sembradas en agar de papa glucosado al 2 %, en estría.

Virulencia

Estas mismas cepas dieron resultado positivo, cuando al cabo de dicho tiempo, se inocularon en plantas jóvenes de soja, es decir, conservan su virulencia durante varios meses. CHAMBERLAIN (12), establece que las hojas inoculadas con *Pseudomonas glycinea*, conservadas en refrigerador a 5-7°C, durante 7 años, no habían perdido su virulencia al cabo de dicho tiempo.

Resistencia a la desecación

Lo mismo que ocurre con la bacteria descripta anteriormente, ésta también se conserva perfectamente en las hojas secas. Se ha conseguido aislarla de material de herbario de casi 1 año de edad. También sobrevive en las hojas secas caídas en el suelo.

KENNEDY, B. W. (30) encuentra que en discos de hojas atacadas,

sometidos a temperatura de -15º C, el porcentaje de células viables varía entre 11 y 45 %.

GRAHAM (17) consigue establecer la persistencia de la bacteria en suelos estériles, en pruebas de laboratorio, después de 9 meses.

INOCULACIONES

Para efectuar las inoculaciones en plantas de soja y en semillas, se partió del mismo *material* y se siguió el mismo *método* que el descripto en el Capítulo 1.

A) INOCULACIONES EN PLANTAS DE SOJA

Resultados

Los primeros síntomas en las hojas aparecen a la semana, en formas de pequeñas manchas translúcidas, que luego van tomando color, hasta llegar al castaño. Los síntomas se confunden fácilmente, según se ha visto, con los de la pústula.

B) INOCULACIONES EN SEMILLAS

Resultados

Las semillas inoculadas manifestaron una pérdida del poder germinativo del 80 a 85 %, según la variedad. Las que germinaron, produjeron plántulas en cuyos cotiledones se observaron manchas oscuras.

Tanto de estos cotiledones manchados como de las semillas que no germinaron y de las hojas de las plantas inoculadas y con lesiones, se ha conseguido reaislar el patógeno. Comparadas estas cepas con las empleadas para la inoculación, resultaron poseer características semejantes, dándose así por cumplidos los postulados de Koch.

PATOGENIA

Penetración

Al igual que *Xanthomonas phaseoli var. sojense*, esta bacteria penetra también por los estomas ocupando por completo, cuando la lesión es importante, la cavidad subestomática.

El patógeno avanza a través de los espacios intercelulares.

Incubación

En condiciones de invernáculo, la incubación oscila alrededor de los 6-8 días, en cuyo término aparecen las primeras lesiones, si bien los síntomas típicos se observan recién entre los 12 y 15 días.

Propagación

Según se ha visto, y la bibliografía lo especifica [Kendrich y Gardner (29)], la bacteria subsiste y se propaga por las semillas. Se consiguieron aislar varias cepas de *Pseudomonas glycinea*, de semillas de las variedades Ogden y Lee, después de un año y medio de cosechadas.

Graham (17) determina que en suelos comunes (sin esterilizar), persiste lo suficiente, como para establecer que el mismo, es un posible medio apto para que la bacteria inverne y pueda infectar en el próximo año.

También, según se ha visto, sobrevive en las hojas enfermas caídas y en los restos de las plantas que quedan después de la cosecha. [Coerper, F. (8)].

La fuente de infección primaria la constituye por un lado, las semillas y por otro, las hojas atacadas que quedan en el suelo. De las primeras, el ataque pasa a los cotiledones y luego de éstos a las primeras hojas trifoliadas. De éstas, la enfermedad se difunde hacia las otras hojas que van apareciendo, a medida que avanza la infección secundaria.

Condiciones predisponentes

Las primaveras y veranos frescos y lluviosos, favorecen la difusión de la enfermedad. En el cultivo de soja correspondiente a la cosecha 1962/63, se ha podido comprobar una menor incidencia de esta bacteriosis, comparando siempre las mismas variedades, en las mismas Estaciones Experimentales, con los ataques observados en años anteriores.

Además, cuando la enfermedad se manifestó, los síntomas más típicos ocurrieron en las hojas inferiores, más cercanas al suelo, donde la humedad es mayor.

Es fácil relacionar esta disminución de la difusión de la bacteriosis, con el período de prolongada sequía que soportó casi todo el país, durante el verano 1962/63.

También las siembras muy tempranas, en las que las plantitas sufren, durante las primeras semanas, temperaturas bajas, favorecen la aparición y difusión de la enfermedad.

Daños

En realidad, casi todas las variedades observadas son susceptibles al ataque de *Pseudomonas glycinea*. La variedad Hawkeye, ensayada en Río Negro, en el período 1961/62, demostró poseer una cierta resistencia.

La bibliografía (36) cita a esta variedad y a Flambeau, como las menos susceptibles de las sembradas en el norte de los Estados Unidos.

El tizón bacteriano es una enfermedad que en ataques muy severos, puede llegar a producir defoliación prematura, con las consecuencias naturales de la misma.

En cuanto a los daños en semilla, su importancia radica en la incidencia que puede tener en el poder germinativo, hecho que aún está en su faz de experimentación.

Los daños se extienden a las semillas aparentemente sanas, pero provenientes de legumbres enfermas; se ha comprobado que las plántulas que emergen de aquéllas, presentan síntomas de tizón.

CAPITULO III

Quemazón o "Wildfire"

No es una enfermedad específica de soja, sino que ataca también tabaco.

De las tres bacteriosis de la soja, es la más fácil de diferenciar sobre todo, en estado avanzado.

Además, en los cultivos observados fue la menos común, ocupando el tercer lugar, después de la pústula y el tizón bacteriano.

Huéspedes

Solamente las variedades Lee, J. E. W. 45, Shelby y Común de Misiones, han manifestado síntomas de esta enfermedad; cabe destacar que esta última, no es en realidad una variedad sino una población.

El material estudiado corresponde a las exicatas nº 517, 519, 521, 529, 545 y 546, de la Cátedra de Fitopatología.

Difusión

Su difusión no es tan amplia como la de las otras dos bacteriosis, quedando circunscripta en nuestro país a Misiones.

Este hecho puede atribuirse a la circunstancia de que en esta zona se cultiva también tabaco. Pero entre las Estaciones Experimen-

tales donde se llevan a cabo los ensayos de comportamiento varietal, también en Salta hay cultivos de tabaco, sin embargo, allí no se han hallado plantas atacadas por "wildfire".

Esta circunstancia corroboraría lo sustentado por CLAYTON (6), quien establece que "la bacteria ataca a soja aunque en la zona no haya tabaco, en las zonas donde están ambos cultivos, puede atacar a soja y no a tabaco. No hay, por lo tanto, una asociación en la concurrencia de ambos huéspedes".

SINTOMATOLOGÍA

A) *Síntomas macroscópicos*

Los más importantes están circunscriptos a las hojas, si bien puede llegar a atacar tallos, pecíolos, legumbres y semillas.

En las hojas aparecen al principio, manchas húmedas, que luego van tomando un color castaño oscuro, hasta llegar al negro. (Fig. 3: A y B.)

El tamaño de las manchas es variable y a medida que la enfermedad avanza, se van agrandando, haciéndose confluentes y extendidas. (Fig. 3: C y D.)

En esta forma, llegan a producirse sobre los foliolos, grandes superficies de tejido necrosado. Las hojas adquieren un aspecto como si realmente hubieran sido quemadas.

Una característica típica de esta enfermedad es que siempre, todas las manchas, cualquiera sea su edad o tamaño, están rodeadas por un ancho halo amarillento.

Precisamente este detalle permite diferenciar esta enfermedad de las otras dos bacteriosis.

Según ALLINGTON (1), el halo amarillento se debe a una exotoxina producida por la bacteria. Esta toxina es abundante en cultivo puro, de donde se la puede separar. Filtrándola e inoculándola luego, vuelve a reproducir los mismos síntomas. Además, la capacidad de producir esa toxina, que destruye el tejido clorofiliano, es característica de cada cepa y varía con los distintos aislamientos.

La estructura química de esta toxina es similar a la de la metionina [BRAUN, A. C. (4)].

En cuanto a los aislamientos efectuados del material en estudio, siempre que se ha hallado *Pseudomonas tabaci* provenía de manchas con halo.

GRAHAM (16) determina que también se pueden producir lesiones sin zonas cloróticas, en cuyo caso las manchas son pequeñas, circula-

res, de color castaño, con un borde y una porción central más oscuros. Según este mismo autor, este tipo de lesión, probablemente se produce cuando el tejido que la rodea, está congestionado de agua y en las células de esta zona se produce una necrosis rápida, que no les da tiempo para producir una simple clorosis.

En las variedades muy susceptibles aparecen también manchas irregulares, de color castaño, en los tallos.

En las legumbres las manchas son al principio húmedas y luego se oscurecen.

Cuando las condiciones son propicias y los ataques graves, las lesiones de las hojas se difunden rápidamente por los tres foliolos y la hoja termina por caer.

Esto se observa claramente, sobre todo en las hojas inferiores de la planta.

B) *Síntomas microscópicos*

Se observa necrosis de los tejidos invadidos por la bacteria.

Respecto al *signo* no se observa ningún exudado bacteriano sobre las manchas.

Etiología

El agente causal del "wildfire" es *Pseudomonas tabaci* (Wolf and Foster) Stevens, cuya sinominia es la siguiente:

Phytomonas tabacae (Wolf and Foster) Bergey et al.
Bacterium tabacum Wolf and Foster

Aislamientos

a) Aislamientos de hojas

Material

Se aisló de hojas de las variedades Lee, J. E. W. 45, Shelby y Común de Misiones, frescas y secas de herbario.

Método

El método que se siguió es idéntico al descripto con anterioridad.

Resultados

En ninguno de los numerosos aislamientos efectuados se consiguió aislar sola a esta bacteria. Siempre aparecieron en las cajas de cultivo, además, las colonias amarillas características de *Xanthomonas pha-*

seoli var. sojense, hecho este que confirma las observaciones de GRAHAM (18), sobre la asociación de ambos microorganismos.

Con menos frecuencia se han aislado también del mismo material enfermo, cepas de *Pseudomonas glycinea.*

Se puede establecer, por lo tanto, como lo hace DICKSON (14), que el "wildfire" está frecuentemente asociado con el tizón y la pústula bacteriana".

JOHNSON, H. W. y D. W. CHAMBERLAIN (27) citan el caso de la variedad C N S, que en Estados Unidos es altamente resistente a la pústula y que también permanece en el campo, libre del "wildfire".

B) AISLAMIENTOS DE SEMILLAS

Material

Fue el mismo que el empleado para efectuar los aislamientos de *Pseudomonas glycinea,* además de semillas de la variedad Lee, proveniente de Misiones.

Método

Fue similar al descripto anteriormente.

Resultados

Se consiguieron cepas de *Pseudomonas tabaci* de semillas aparentemente sanas, pero de bajo poder germinativo, provenientes de la última cosecha y de otras de 6 meses de almacenamiento.

No se han conseguido aislar bacterias de tallos ni de legumbres manchados.

OTROS CARACTERES

Longevidad

De las tres bacterias estudiadas es la de menor longevidad. Los aislamientos de hojas no dieron resultados positivos si las mismas tenían más de tres meses de cosechadas.

En cuanto a las semillas, en ellas el microorganismo puede sobrevivir más tiempo. Como queda dicho, se ha conseguido aislar la bacteria de semillas de más de 6 meses de edad. En cuanto a la longevidad en cultivo, en tubos en estría de agar de papa glucosado y a temperatura ambiente, es de alrededor de 3-4 meses.

Virulencia

En las condiciones antedichas, las cepas conservaron su virulencia, al cabo del tiempo mencionado.

Resistencia a la desecación

En hojas infectadas caídas en el suelo, la bacteria puede sobrevivir 3-4 meses.

En cambio, si las hojas han sido enterradas, el período de vida es menor.

Según GRAHAM (17) la bacteria sobrevivió en el suelo estéril durante 9 meses.

INOCULACIONES

A) INOCULACIONES EN PLANTAS DE SOJA

El *material* y *método* empleados fueron los mismos que los descriptos oportunamente.

En las primeras inoculaciones efectuadas, ninguna de las cepas aisladas, a pesar de ser Gram negativas, manifestaron ser patógenas.

Consultada la bibliografía respectiva [GRAHAM (18)], resultó ser que la bacteria en estudio, necesita como puerta de entrada, las lesiones producidas por *Xanthomonas phaseoli var. sojense*. Según este autor, parece ser que *Pseudomonas tabaci* aislado de soja no es suficientemente virulento como para atacar las hojas de esta leguminosa.

CHAMBERLAIN (11), confirma las observaciones anteriores, estableciendo, además, que también el tizón bacteriano, contribuye a la infección del "wildfire".

Se procedió entonces en concordancia con estas observaciones, sin variar las características generales de la técnica.

En consecuencia, en lugar de inocular únicamente cepas puras de *Pseudomonas tabaci*, se efectuó una suspensión de una mezcla de *Xanthomonas phaseoli* y *Pseudomonas tabaci*, por un lado, y *Pseudomonas tabaci* con *Pseudomonas glycinea*, por otro.

Además, dado el poco éxito de las primeras inoculaciones con *Pseudomonas tabaci* y la circunstancia de que en esta enfermedad es más importante aún que en las anteriores, la condición de "water congestión" [ALLINGTON (1)], se tuvo mucho cuidado al efectuar las inoculaciones, de asegurarse una buena turgencia de los tejidos foliares.

Resultados

Se obtuvieron resultados positivos, con aparición de manchas claras a castañas, pequeñas al principio, rodeadas de un halo amarillento, a los 8 días de efectuada la inoculación. Después de algunos días, las manchas se oscurecen extendiéndose sobre la superficie foliar, al mismo tiempo que aumenta el ancho del halo.

Simultáneamente fueron apareciendo los síntomas de la pústula bacteriana, mezclándose ambos, al cabo de unos pocos días.

No se obtuvieron resultados positivos, cuando se inoculó *Pseudomonas tabaci* conjuntamente con *Pseudomonas glycinea.*

b) Inoculaciones en semillas

El *material* y *métodos* fueron similares a los descriptos anteriormente.

Resultados

De las semillas inoculadas se consiguió reaislar la bacteria.

Se cumplieron con éstas y con las provenientes de las inoculaciones en plantas, los postulados de Koch.

Respecto a las inoculaciones, cabe mencionar que éstas se efectuaron únicamente en plantas de soja, por ser en este cultivo en el que interesaba observar los síntomas y probar la patogenicidad de las cepas aisladas.

Pero dada la circunstancia de que la bacteria ataca también al tabaco, es interesante consignar algunos intentos de inoculación cruzada que cita la bibliografía.

Así Clayton (6) y Chamberlain (10), no tuvieron éxito en sus inoculaciones cruzadas, encontrando que *Pseudomonas tabaci,* aislado de tabaco, era más patógeno en tabaco que en soja. Lo mismo ocurrió con las inoculaciones en soja, si bien las diferencias no fueron tan notables. Concluyendo estos autores que "*Pseudomonas tabaci* es un parásito primario, menos virulento en soja que en tabaco".

Patogenia

Penetración

La bacteria penetra por los estomas, cuando el huésped ha sido previamente atacado por *Xanthomonas phaseoli* o *Pseudomonas glycinea.*

El avance del patógeno se realiza a través de los espacios intercelulares.

Incubación

En condiciones de invernáculo, los primeros síntomas aparecen a la semana aproximadamente, de efectuada la inoculación.

Propagación

El principal órgano de propagación es la semilla, a partir de la cual se producen las infecciones primarias. Perdura también en las hojas enfermas caídas en el suelo.

Condiciones predisponentes

Las altas temperaturas y abundantes lluvias o humedad ambiente, favorecen la aparición y difusión de la enfermedad. En realidad, dada la estrecha relación existente con la pústula bacteriana, las mismas condiciones ambientales predisponen a una y otra enfermedad.

Daños

Si se dan las condiciones favorables para el patógeno, así como variedades muy susceptibles, los daños pueden llegar a ser graves, produciéndose defoliación de las plantas atacadas.

En realidad, en nuestro país, de las tres bacteriosis de la soja, no sólo es la menos difundida geográficamente, sino también la que menor daño ocasiona.

CUADRO Nº 1: *Características morfo-fisiológicas y culturales de las bacterias*

Características	*Xanthomonas phaseoli var. sojense*	*Pseudomonas glycinea*	*Pseudomonas tabaci*
Forma	Bastoncito	Bastoncito	Bastoncito
Coloración de Gram	Negativa	Negativa	Negativa
Movilidad	Móvil	Móvil	Móvil
Cilias (1)	Monótrica	Lofótrica	Lofótrica
Esporas (2)	No posee.	No posee	No posee
Acido - resistencia	Negativa	Negativa	Negativa
Desarrollo en:			
Caldo nutritivo standard	Poca turbidez. A las 48 horas, comienza la formación de un aro amarillento. Sedimento escaso. Sin película.	Poca turbidez. A las 48 horas comienza la formación de una fina película. Sedimento escaso.	A las 24 horas, leve turbidez, que se acentúa a las 48 horas. Al tercer día, comienza la formación de una fina película.
Agar de extracto de carne (cajas)	Colonias circulares, amarillas, brillantes, algo elevadas, de borde entero	Colonias circulares, pequeñas, blancas, algo grisáceas después de varios días, brillantes, elevadas y de borde entero.	Colonias blancas, circulares, elevadas, brillantes y de borde entero.
Agar de extracto de carne (estrías)	Desarrollo filiforme, consistencia mucosa.	Desarrollo moderado, consistencia cremosa.	Desarrollo moderado, consistencia algo cremosa.
Agar de papa glucosado, al 2 % (cajas)	Colonias amarillas, circulares, brillantes, ligeramente convexas, algo mucosas.	Colonias blancas, circulares, elevadas. Borde entero.	Colonias blancas, de aspecto húmedo, convexas y de borde entero.
Agar de papa glucosado, al 2 % (estrías)	Desarrollo abundante, de color amarillo, de consistencia mucosa.	Desarrollo moderado, blanco grisáceo, de consistencia algo cremosa.	Desarrollo moderado, de color blanco y consistencia cremosa.

(Continuación del Cuadro 1).

Características	*Xanthomonas phaseoli var. sojense*	*Pseudomonas glycinea*	*Pseudomonas tabaci*
Cilindros de papa	Desarrollo amarillo, mucoso, abundante.	Desarrollo no muy abundante, blanco grisáceo, de consistencia cremosa.	Desarrollo no muy abundante, elevado, blanco, cremosa.
Leche común	Precipitación de la caseína, separación del coágulo y muy lenta peptonización de éste.	Formación de coágulo, separación del mismo pero sin posterior peptonización. Aparición de un pigmento fluorescente verde.	Peptonización lenta de la caseína.
Leche tornasolada	Características similares a las de la leche común. Reacción débilmente alcalina.	Características similares a las de la leche común. Reacción alcalina. La pigmentación verde no es tan evidente por la presencia del tornasol.	Características similares a las de la leche común. Reacción francamente alcalina.
Licuación de la gelatina	Muy lenta, al cabo de 20 días. Estrateriforme.	No licúa.	Licúa superficialmente.
Reducción de nitratos (3)	No reduce	No reduce.	No reduce.
Hidrólisis del almidón	Hidrólisis parcial, a los 15 días.	No hidroliza.	No hidroliza.
Producción de indol (4)	No se produce.	No se produce.	No se produce.

(Continuación del Cuadro 1).

Características	*Xanthomonas phaseoli var. sojense*	*Pseudomonas glycinea*	*Pseudomonas tabaci*
Utilización de fuente carbonada	Reacción ácida, sin formación de gas.	Reacción ácida, sin formación de gas.	Reacción ácida, sin formación de gas
Utilización de fuente nitrogenada	Utiliza caseína y aspargina.	Usa sulfato amonio y nitrato de potasio.	Usa sulfato de amonio y nitrato de potasio.

Observación

Los métodos seguidos para las distintas determinaciones corresponden a los descriptos en el *Manual of Methods for Pure Culture Study of Bacteria,* de la Society of American Bacteriologists, salvo los indicados ( ) que corresponden a:

(1) *Casares-Gil: Plimer y Paine:* Jour. Path. and Bact. 24:286/288. 1921.
(2) *Wirtz,* modificado por *Conklin:* Jour. Bact. 27:30. 1934.
(3) *Cunningham:* Practical Bacteriology, 3rd Ed. p. 211. 1947.
(4) *Dowson, W. J.:* Manual of Bacteria Plant Diseases. 1949.

Conclusiones

1) Se encuentran en el país las tres bacteriosis de la soja: pústula y tizón bacterianos, y quemazón o "wildfire", citadas por la bibliografía extranjera.

2) La sintomatología de las dos primeras es muy fácil de ser confundida, sobre todo en los estados iniciales de la enfermedad, no así de la tercera, que se caracteriza por la presencia de un ancho halo amarillento, alrededor de las manchas oscuras.

3) Todas las variedades observadas: (Scott, Dorman, Hill, Ogden, Lee, J. E. W. 45 Clark, Hood, Shelby, Hawkeye, FAV 24, FAV 30), son susceptibles a la pústula y tizón, excepción hecha de las tres últimas, que parecen ser poco susceptibles a éste.

4) El "wildfire" se ha encontrado únicamente en las variedades Lee, J. E. W. 45, Shelby y Común de Misiones.

5) De los aislamientos efectuados (de hojas, pecíolos, semillas y vainas), únicamente no dieron resultados positivos, los de estas últimas.

6) Las características morfo-fisiológicas y culturales de las cepas aisladas, han permitido establecer que los agentes causales de la pús-

tula, tizón y quemazón son: *Xanthomonas phaseoli var. sojense*, *Pseudomonas glycinea* y *Pseudomonas tabaci*, respectivamente, de acuerdo a BERGEY (3).

7) Con frecuencia, se encuentran asociados, en las mismas lesiones *Xanthomonas phaseoli var. sojense*, con *Pseudomonas glycinea* y con *Pseudomonas tabaci*.

8) Las cepas aisladas, demostraron ser patógenas, cuando se las inoculó en plantas jóvenes de soja, o en semillas (en condiciones de invernáculo).

9) En el caso de *Pseudomonas tabaci*, se ha comprobado que para la inoculación de este microorganismo sea positiva, es necesario que previa o simultáneamente, haya habido un ataque de *Xanthomonas phaseoli var. sojense*.

10) Las tres bacterias se trasmiten a través de las semillas y de las hojas enfermas que quedan en el terreno.

11) De las tres enfermedades estudiadas, la más grave y más difundida en el país es la pústula, siguiéndole en orden de importancia, el tizón, y finalmente el "wildfire".

RESUMEN

Se estudian las tres bacteriosis de la soja, encontradas en la Argentina: pústula y tizón bacterianos y quemazón "wildfire".

Se describe la sintomatología de cada una de ellas, estableciéndose la fácil confusión entre los síntomas del tizón y la pústula.

Se establece la distribución geográfica y varietal de cada una de las enfermedades.

Se describen los métodos seguidos para efectuar los aislamientos de hojas frescas y secas de herbario y de semillas atacadas.

Se detallan las características morfo-fisiológicas y culturales de las cepas aisladas, concluyéndose que las mismas corresponden a *Xanthomonas phaseoli var. sojense*, agente causal de la pústula bacteriana, *Pseudomonas glycinea*, que produce el tizón y *Pseudomonas tabaci*, que ocasiona el "wildfire".

Se comprueba la común asociación entre los dos primeros patógenos.

Se describen los distintos métodos ensayados para efectuar las inoculaciones de las cepas aisladas, en hojas de plantas jóvenes y semillas de soja, en condiciones de invernáculo.

Se confirma que un ataque previo o simultáneo de *Xanthomonas phaseoli var. sojense*, es imprescindible para la infección de *Pseudomonas tabaci*.

Se constata la propagación de las bacterias a través de las semillas y hojas enfermas que quedan en el suelo.

Se concluye que la enfermedad más grave en el país es la pústula, siguiéndole en orden de importancia, el tizón y finalmente el "wildfire".

SUMMARY

Three bacteriosis of the soybean, found in Argentina: bacterial pustule, bacterial blight and wildfire, have been studied.

The symptomatology of each one is described, stating the easy confussion which may arise between the symptoms of bacterial pustule and bacterial blight.

The geographical and varietal distribution of each disease is determined.

The methods of isolation from fresh and dried leaves and from attacked seeds and the different kinds of inoculations of the same organs, in greenhouse conditions, are described.

Details of the morphological and physiological characteristics of the isolated strains are given, and the common association between *Xanthomonas phaseoli var. sojense* and *Pseudomonas glycinea* is confirmed.

The need of a previous or simultaneous attack of *Xanthomonas phaseoli var. sojense*, for the infection of *Pseudomonas tabaci*, is confirmed.

The propagation of the three bacteria throug the seeds and diseased leaves which remain in the soil, is established.

It is concluded that *Xanthomonas phaseoli var. sojense*, *Pseudomonas glycinea* and *Pseudomonas tabaci*, produce bacterial pustule, bacterial blight and wildfire, respectively, in Argentina and that the most serious disease is the first, followed in orden of importance by the second and the third.

BIBLIOGRAFIA CITADA

(1) ALLINGTON, W. B. - Wildfire disease of soybean - Phytop. 35 (11): 857/869. 1945.

(2) — The relation of stomatal behavoir at the time of inoculation to the severity of infection of soybean by *Xanthomonas phaseoli var. sojense*. Phytop. 36 (5) : 385/386. 1945.

(3) BERGEY'S - Manual of Determinative Bacteriology - 6th Ed. 1948.

(4) BRAUN, A. C. - A study on the mode of wildfire toxin - Phytop. 45 (12): 656. 1955.
(5) CLAYTON, E. E. - Water soaking of leaves in relation to the development of the wildfire disease of tobacco - Jour. Agric. Res. 4 (52): 239/269. 1936.
(6) —Wildfire disease of tabacco and soybeans - Pl. Dis. Reptr. 34: 141/142. 1950.
(7) CLINTON, G. P. - Notes on plant disease of Connecticut - Connec. Agr. Exp. Sta. Ann. Rept. 1915: 444/446. 1916.
(8) COEPER, F. - Bacterial blight of soybean - Jcur. Agr. Res. 28 (4): 179/194. 1919.
(9) CUNNINGHAM, A. - Practical Bacteriology. 3rd Ed. 1947.
(10) CHAMBERLAIN, D. W. - Pathogenicity of *Pseudomonas tabaci* on soybean and tabacco - Phytop. 46 (1): 51/52. 1956.
(11) — Methods of inoculation for wildfire of soybean and the effect of bacterial pustule on the wildfire development - Phytop. 46 (2): 96/98. 1956.
(12) — Mantainning bacterial organisms in soybean leaves - Pl. Dis. Reptr. 41 (12): 1039/1040. 1957.
(13) — A halo producing strain of *Pseudomonas glycinea* - Phytop. 42 (6) 299. 1952.
:229. 1952.
(14) DICKSON, J. G. - Disease of Field Crops. - 2nd Ed. Mc. Graw - Hill Book Co. 1956.
(15) DOWSON, W. J. - Manual of Bacterial Plant Diseases - Cambridge Univ. 1949.
(16) GRAHAM, J. H. - New wildfire symptons on soybean - Plant Dis. Reptr. 36 (1): 22. 1952.
(17) — Overwintering of three bacterial pathogens of soybean - Phytop. 43 (4): 1889/1892. 1953.
(18) —Cultural and ephiphytatic relationships of three pathogens of soybean - Phytop. 48 (4): 193/194. 1953.
(19) HARTWIG, E. F. & JOHNSON, H. W. - Effects of the bacterial pustule disease on yield and chemical composition of soybean - Agr. Jour. Res. 41 (1): 22/23. 1953.
(20) HEALD, F. D. - New or little know plant diseases in Nebraska - Sc. ns. 23 : 624. 1906.
(21) HEDGES, F. - Bacterial pustule of soybean - Jour. Agric. Res. 29 (2): 57/58. 1924.
(22) — A study of bacterial pustule of soybean and a comparison of *Bacterium phaseoli sojense* Hedges, and *Bacterium phaseoli* E. F. S. - Jour. Agr. Res. 29 (5): 229/251. 1924.
(23) JOHNSON, J. - Infection experiments with detached water congested leaves. Phytop. 35 (12): 1017/1028. 1945.
(24) — Water congestion and infection experiments on various plant species - Phytop. 36 (5): 12. 1946.
(25) — Water congestion in plants in relation to disease - Wis. Agr. Exp. Sta. Bul. 160. 1947.
(26) JOHNSON, A. G. & COERPER, F. M. - A bacterial blight of soybean - Phytop. 7 (1): 65. 1917 (Abs).
(27) JOHNSON, H. W. & CHAMBERLAIN, D. W. - Bacteria, fungi and viruses on soybean - U.S. Dep. Agr. Year Book: 238/247. 1953.
(28) JONES, J. P. - A weed host of *Xanthomonas phaseoli var. sojense* - Phytop. 51 (3): 206. 1961.
(29) KENDRICK, J. B. & GARDNER, M. W. - Seed transmition of soybean bacterial blight - Phytop. 11 (8): 340/342. 1921.
(30) KENNEDY, B. W. - Tolerance of *Pseudomonas glycinea* to freezing temperatures - Phytop. 53 (8): 879. 1963 (Abs.).
(31) LLOBET, F. J. - Enfermedades parasitarias de la soja (*Glycine max* Merril) en la República Argentina. Informe al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. 1959.

(32) MIURA, M. - Diseases of the Main Agricultural Crops of Manchuria - Agric. Exp. Sta. South Manchuria Railway Co. Bull. 11. 1921.
(33) SCHULLTZ, E. F. - Revista Industrial y Agrícola de Tucumán XXXI (1-3): 40/43. 1941.
(34) SMITH, E. F. - Bacteria in relation to plant diseases - Washington D. C. 1911.
(35) TAKIMOTO, S. - Bacterial spotting disease of soybean - Jour. Plant Protection. 8 : 231/241. 1921.
(36) U. S. DEP. OF AGRICULTURE - Soybean Diseases - Farmer's Bull. Nº 2077. 1955.
(37) WOLF, F. A. - Bacterial pustule of soybean - Jour. Agric. Res. 29 (2): 57/68. 1924.
(38) — Bacterial blight of soybean - Phytop. 10 (2) : 119/132. 1920.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

ALLINGTON, W. B. & FEASTER, C. V. - The relation of stomatal behavoir at the time of incoulation, to the severity of infection of soybean by *Xanthomonas phaseoli var. sojense*. Phytop. 36 (5): 385/386. 1946.

CHAMBERLAIN, D. W. - Resistence to bacterial blight in soybean. Phytop. 41 (1): 6. 1951.

—& KOELER, B. - Soybean diseases in Illinois. Univ. of Ill. Ext. Ser. Cir. Nº 676. 1951.

DOWSON, W. J. - Plant Diseases due to Bacteria. Cambridge Univ. 2nd Ed. 1957.

FREIRE, J. - La pústula bacteriana en soja *(Xanthomonas phaseoli var., sojense)*. Rev. Agr. 16 (193-194): 88/91. Brasil. 1953.

FROSHEISER, F. I. - Storing inoculum of *Pseudomonas glycinea*, in host tissue by freezing. Phytop. 46 (9): 526. 1956.

GRAHAM, J. H. - Preservation of three bacterial pathogens of soybean in culture. Plant Dis. Reptr. 36 (1): 22/23. 1952.

HEDGES, F. - Association of *Xanthomonas phaseoli* and common bean, mosaic virus, *Marmor phaseoli*. II. Dissociation studies of Xanthomonas phaseoli. Phytop. 36 (8): 589. 1946.

KAUFMANN, M. J. & CHAMBERLAIN, D. W. - The effect of antibiotics on *Pseudomonas glycinea*. Plant Dis. Reptr. 41 (9): 806/807. 1957.

LEHMAN, S. G. - Studies on bacterial pustule of soybean. Phytop. 19 (1): 96. 1929.

— Observations and experiments relating to the bacterial pustule disease of soybean. Jour. Elisha Mitchel Sc.: 179/189. 1931.

—& WOODSIDE, J. G. - Varietal resistence of soybean to the bacterial pustule disease. Jour. Agr. Res. 39: 795/805. 1929.

U. S. DEP. OF AGRICULTUR - Farmer's Bull. Nº 1937. 1943.

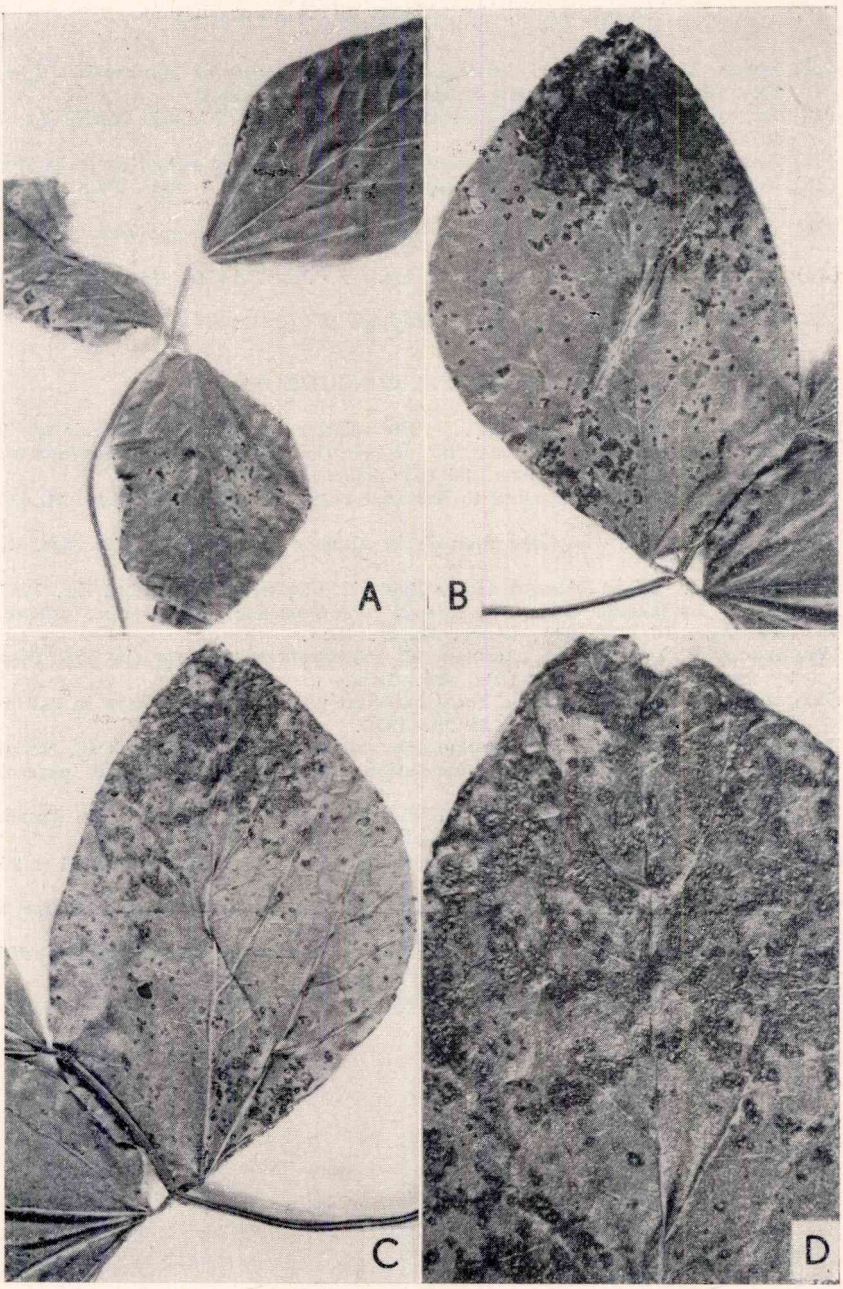


Figura 1

A, Primeros síntomas de pústula bacteriana (Variedad Lee); B, Pústula bacteriana, cara superior (Variedad Clark); C, Pústula bacteriana, cara inferior (Variedad Clark); D, Detalle de C.

A x 1; B y C x 2; D x 3. (Fot. H. Rodríguez).

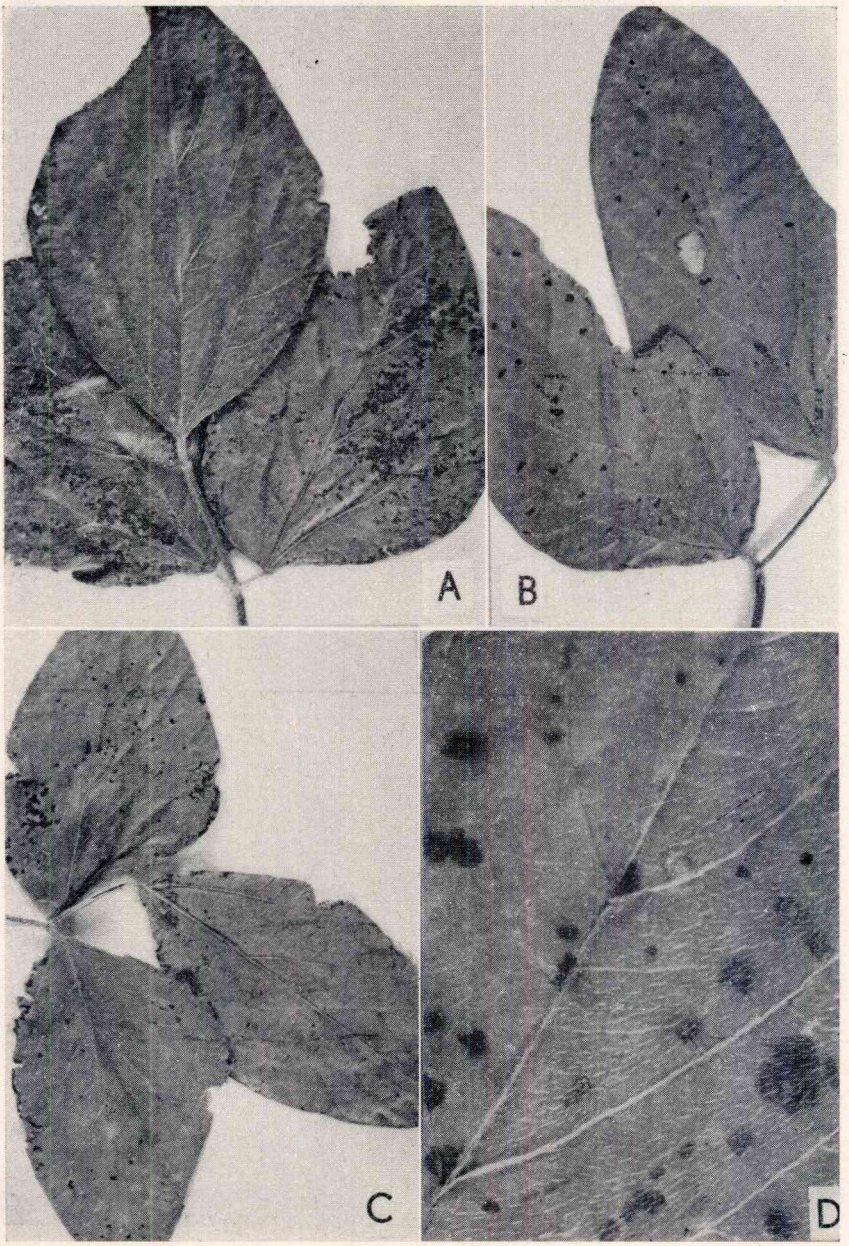


Figura 2

A, Pústula bacteriana, aspecto que presentan las hojas por la caída del tejido necrosado; B, Tizón bacteriano (Variedad J. E. W. 45); C, Tizón bacteriano (Variedad Hill); D, Detalle del síntoma del tizón bacteriano, cara superior (Variedad Lee). — A, B y C x 1; D, x 3. (Fot. H. Rodríguez).

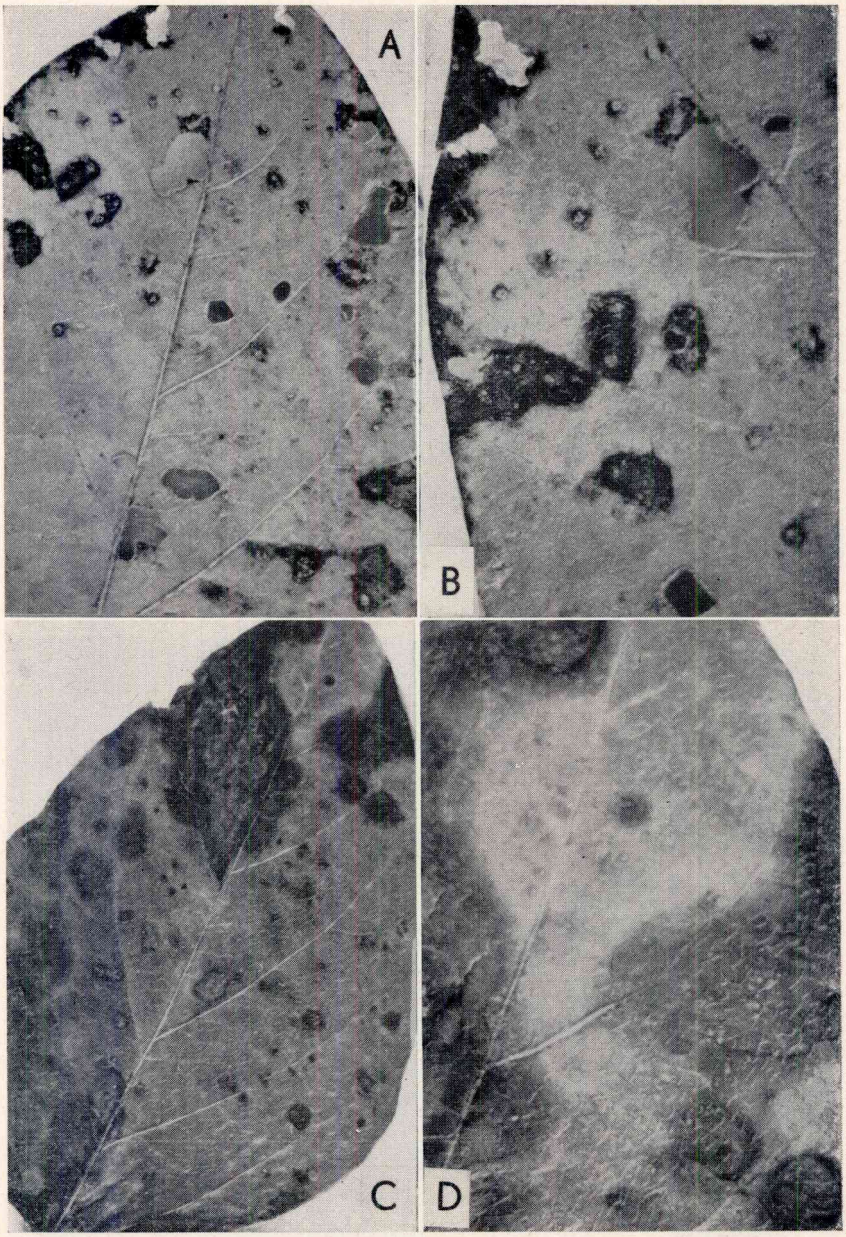


Figura 3

A, ''Wildfire'' (Variedad J. E. W. 45); B, Detalle de A; C, ''Wildfire'' (Variedad Shelby); D, Detalle de C. — A x 2; B x 3; C x 2; D x 3. (Fot. H. Rodríguez).

REVISTA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA DE BUENOS AIRES
16 (Entrega II): 63-82 Dic. 1965

551.524(821.2): 581.543.6

Régimen de horas de frío durante el invierno en Buenos Aires

POR
ANTONIO J. PASCALE (*) y CELESTINO ASPIAZÚ (**)

Introducción

Es bien conocida la necesidad que presentan ciertas especies agrícolas perennes de satisfacer un determinado enfriamiento durante el período de descanso, para que el subsiguiente proceso vegetativo se cumpla sin anomalías fenológicas ni se presenten variaciones en la productividad. Ese enfriamiento comienza a computarse como acumulación de horas de frío cuando la temperatura del aire desciende de un nivel térmico establecido en los 7°C.

La intensidad de la fase negativa del termoperíodo anual que caracteriza a la mayoría de las regiones del hemisferio norte dedicadas a la explotación de frutales de hojas caducas, permite que las plantas concluyan su período de descanso con un exceso de horas de frío. En cambio, la típica oceanidad del hemisferio sur, determina que los inviernos de la mayoría de sus zonas frutícolas no alcancen a cubrir los requerimientos mínimos de los frutales criófilos; así es que las especies más exigentes, como lo son los manzanos y los perales, deben ser ubicadas en latitudes altas o en lugares situados a mayor altura sobre el nivel del mar, allí donde el régimen térmico invernal permite el enfriamiento más conveniente, pero que en primavera ofrecen el peligro de las heladas tardías; las zonas con inviernos más suaves son reservadas para especies menos exigentes, como ser almendros, damascos, cerezos, ciruelos y hasta para durazneros.

(*) y (**) Ingenieros Agrónomos, Profesor Asociado y Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Climatología y Fenología Agrícolas, respectivamente.

La falta de temperaturas suficientemente bajas para el normal descanso de las especies criófilas, ha sido señalada en distintas regiones, aun del hemisferio norte, pero los casos más frecuentes se presentan en el hemisferio sur. A modo de ejemplo se citan los estudios efectuados en Argentina, Brasil e Israel. (BURGOS Y LEDESMA, 1942) (DA MOTA, 1957) y (BARAK, 1964).

En este trabajo se estudia el régimen de horas de frío de Buenos Aires con los valores de la Estación Meteorológica de Villa Ortúzar que se encuentra en el ámbito del campo experimental de la Facultad de Agronomía y Veterinaria. Por el mismo, los investigadores que realizan estudios en la Facultad podrán comprobar la forma en que cumplen los inviernos las especies experimentadas a campo, así como podrá servir para que la metodología utilizada pueda usarse para otras regiones del país donde estudios análogos serían importantes. El aspecto climático se complementa con una aplicación bioclimática, utilizando a tal fin el comportamiento de variedades de ciruelo del monte frutal de la Facultad con relación a la diferente intensidad de los inviernos de Buenos Aires.

MATERIAL Y MÉTODO DE TRABAJO

La caracterización del régimen de horas de frío se efectuó a partir de los valores horarios de temperatura del Observatorio Meteorológico de Villa Ortúzar (latitud: 34° 35' S; longitud: 58° 29' W de G; altura: 25 m) para el período 1911 - 1963, los que fueron extraídos del Archivo Nacional del Servicio Meteorológico Nacional. El número de horas inferiores a 7° C, se computó para todos los meses del termoperíodo anual y para cada uno de ellos se aplicó el tratamiento estadístico adecuado a la dispersión de valores analizados.

La eficiencia de las horas de frío durante el período de descanso de las plantas es variable según el termoperíodo diario, es decir, según como se presenta la termofase positiva diaria en relación al descenso térmico nocturno precedente. Un determinado número de horas de frío puede ser bioclimáticamente ineficaz si se corresponde con temperaturas diarias elevadas que producen un efecto devernalizante (PURVIS and GREGORY, 1945). Por tal motivo, para un período de 25 años (1939-1963) se computó el número de horas ocurridas teniendo en cuenta los niveles de: inferiores a 7°C, entre 7° y 14°C, entre 14° y 21°C y superiores a 21°C. Estos valores elevados a porcentaje sirvieron para calcular la incidencia de las temperaturas de cada nivel en los diferentes meses de la termofase negativa anual.

Para poder ajustar una relación entre el número de horas de frío y el valor de la temperatura media mensual se calculó el coeficiente de correlación existente entre esas dos variables en cada mes y con las rectas de regresión correspondientes se verificó el ajuste del pronóstico para el año 1964.

En el aspecto bioclimático se calculó el número de horas de frío del período normal de descanso de los ciruelos, entre el 1º de abril y el 31 de agosto, efectuándose la correlación con la temperatura media de cada mes y luego se verificó el ajuste del pronóstico utilizándose el caso particular del invierno de Buenos Aires de 1964, en relación a la floración primaveral de los ciruelos del monte frutal de la Facultad de Agronomía y Veterinaria (1).

Análisis de los resultados

1) *Variación anual de la temperatura*

Por ser la temperatura un fenómeno continuo, en las latitudes extratropicales la variación estacional de la misma queda perfectamente fijada por una sinusoide, tanto más evidente cuanto más avancemos en latitud o en continentalidad. Para Buenos Aires, con la utilización de las temperaturas medias mensuales, promedio de 50 años (Servicio Meteorológico Nacional, 1958), se confeccionó la variación mensual de la temperatura a través del año (fig. 1). La línea de la temperatura media anual separa las dos fases de variación anual de la temperatura. La termofase negativa, que es el motivo de este trabajo posee la particularidad de ser 11 días más larga que la termofase positiva. Además, es interesante consignar que en una amplitud térmica anual de 13,5°C, la termofase negativa es 0,5° C menos intensa que la termofase positiva. Estos valores pueden comprobarse a través de la figura 1.

2) *Distribución mensual de las horas de frío*

La intensidad de la termofase negativa anual de una localidad puede estudiarse de distintas formas. Climáticamente puede hacerse por la intensidad y frecuencia de los valores mínimos, y bioclimáticamente, según la frecuencia de los distintos niveles térmicos que interesen al individuo considerado, ya sea en su incidencia sobre el crecimiento, desarrollo o confortabilidad. Para el caso de las especies agrícolas crió-

(1) Los autores agradecen al Ing. Agr. Oscar H. Bordarampé, profesor de Cálculo Estadístico y Biometría, la revisión efectuada al tratamiento estadístico aplicado a este trabajo.

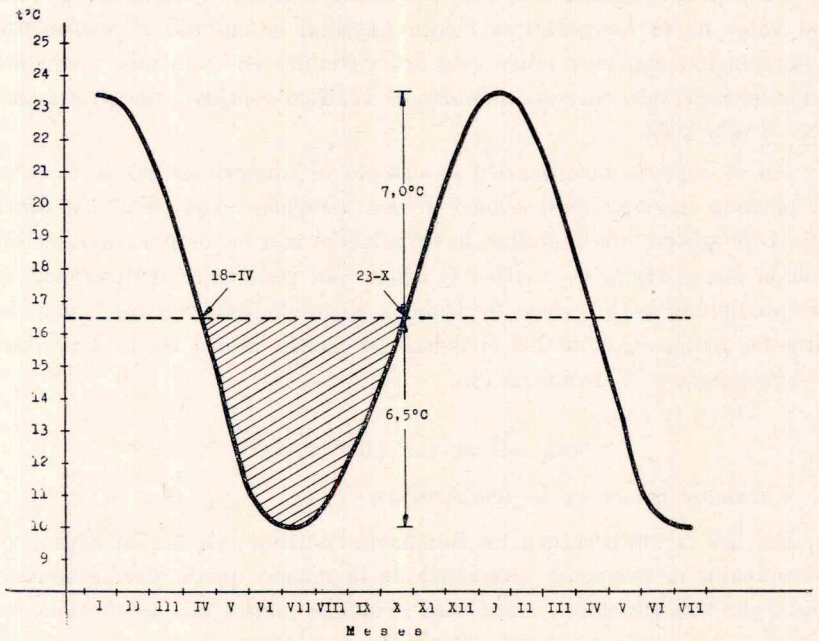


Fig. 1 — Variación mensual de la temperatura del aire a través del año en Buenos Aires.

filas importa estudiar el régimen de las temperaturas durante el período de descanso de esos vegetales, pues de la forma que superen este período de inactividad fenológica dependerá la cantidad y calidad de la producción del año agrícola siguiente. La temperatura de 7° C (NIGHTINGALE and BLACK, 1934 —a y b—), se considera que es la que limita la actividad de crecimiento de los frutales criófilos, por lo cual al número de horas que la temperatura está por debajo de ese nivel se lo denomina "horas de frío" y sirve de patrón de comparación de la intensidad con que esos vegetales superan el período de descanso o inactividad vegetativa.

En la figura 2 se ha representado el valor medio mensual de las horas de frío computado para el período 1911-1963. Surge de la misma que en una curva ligeramente anormal la mayor intensidad se encuentra en el mes de julio y que antes y después de ese mes la ocurrencia del fenómeno es distinta. La intensidad es mayor en los meses anteriores que en los posteriores a julio, pero en cambio en estos últimos, la producción de horas de frío es algo más dilatada, llegando la extemporaneidad hasta el mes de diciembre. Las advecciones de aire frío tan

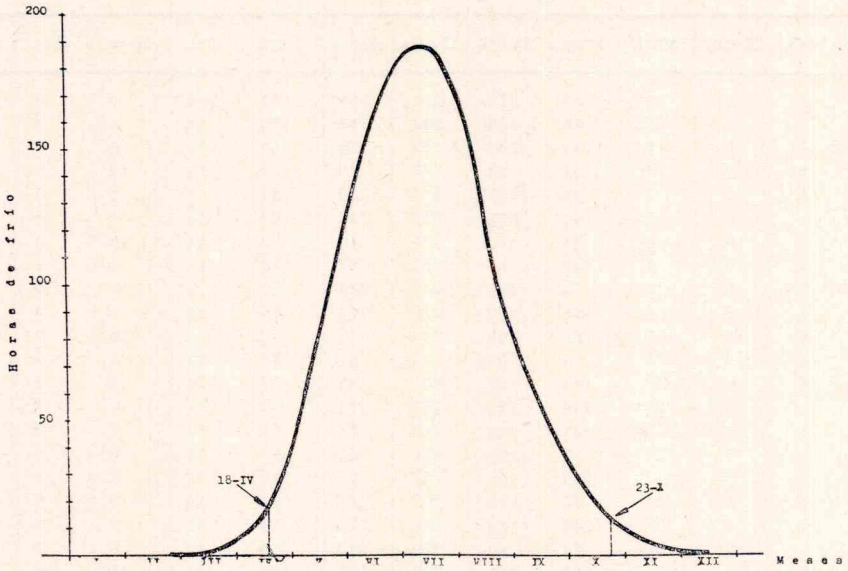


Fig. 2 — Valor medio mensual de las horas de frío registradas en Buenos Aires (período 1911-1963).

comunes en nuestro país son las responsables de que solamente el mes de enero no tenga en ningún momento temperaturas inferiores a 7°C. En la serie analizada, el mes de febrero de 1914 registró la ocurrencia de 8 horas de frío, lo que determina que aun en forma muy espaciada en ese mes puedan producirse temperaturas inferiores al nivel considerado (Cuadro I).

Efectuado el análisis de la distribución de frecuencias de las cantidades de horas de frío mensuales, surge que el valor medio sólo es representativo para los meses de mayor intensidad, es decir, junio, julio y agosto, pues tanto en los anteriores como en los posteriores existe una marcada asimetría hacia los valores menores a la media. Para los meses de junio, julio y agosto, la cantidad de horas de frío en la serie de 53 años presenta una distribución ligeramente asimétrica que no llega a ser significativa, pudiéndose suponer que si el número de años hubiera sido mayor, la curva tendería a la normalidad. Por ello, puede calcularse para esos 3 meses la probabilidad de ocurrencia de distintas cantidades de horas inferiores a 7° C tal como se muestra en el cuadro II.

Del mismo modo puede inferirse que si bien junio y julio tienen mayor cantidad media de horas de frío, agosto presenta una mayor

CUADRO I

Número de horas inferiores a 7°C registradas durante el período 1911-1963 en la Estación Meteorológica Villa Ortúzar (Bs. As.)
(Latitud: 34° 35' S; longitud: 58° 29' W de G; altura: 25 metros)

Años	Feb.	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agos.	Sept.	Oct.	Nov.	Dic.	Total
1911	0	0	20	82	318	208	194	149	102	0	0	1073
1912	0	0	22	115	162	245	184	81	16	0	0	825
1913	0	0	2	49	194	64	135	60	11	0	1	516
1914	8	0	1	28	63	47	70	59	14	12	0	302
1915	0	2	7	66	377	209	120	21	7	2	0	811
1916	0	2	0	61	438	372	111	69	33	8	0	1094
1917	0	0	8	134	169	226	249	59	14	20	0	879
1918	0	0	8	145	200	281	208	110	49	0	0	1001
1919	0	0	10	5	151	147	224	76	9	13	0	635
1920	0	1	0	70	237	310	195	55	33	0	0	901
1921	0	2	15	66	360	244	174	19	0	19	0	899
1922	0	0	39	78	158	33	57	34	21	3	0	423
1923	0	0	28	144	108	307	108	37	25	0	4	761
1924	0	0	29	206	185	255	231	75	35	5	0	1021
1925	0	0	16	151	338	300	88	74	30	0	0	997
1926	0	0	12	97	102	231	62	67	36	6	0	613
1927	0	0	4	110	171	155	95	110	25	5	0	675
1928	0	0	19	35	268	167	169	94	10	2	0	764
1929	0	3	12	140	150	165	131	29	31	8	0	669
1930	0	0	0	17	36	270	197	89	27	2	0	638
1931	0	0	7	186	243	270	115	123	7	14	0	965
1932	0	0	0	153	127	26	131	40	15	0	0	492
1933	0	0	2	24	211	316	92	62	22	8	0	737
1934	0	0	47	112	112	161	111	37	23	3	0	606
1935	0	0	48	24	113	227	130	99	41	1	0	683
1936	0	0	0	31	108	67	187	68	12	0	0	473
1937	0	3	9	138	66	240	113	54	19	12	0	654
1938	0	0	13	16	151	181	178	51	17	0	3	610
1939	0	0	42	23	43	110	78	5	5	8	7	321
1940	0	0	19	35	70	54	150	57	17	3	0	405
1941	0	0	18	99	142	88	63	133	21	3	0	567
1942	0	2	17	115	241	338	79	42	20	0	0	854
1943	0	1	5	39	44	107	206	47	6	2	0	457
1944	0	0	24	47	110	137	89	25	11	0	0	443
1945	0	0	18	68	221	195	65	30	0	0	0	597
1946	0	0	8	46	137	171	85	32	33	0	1	513
1947	0	0	7	80	50	241	193	54	19	2	3	649
1948	0	0	1	103	55	146	249	27	9	8	0	598
1949	0	0	20	75	125	181	139	72	35	2	0	649
1950	0	0	16	40	89	194	145	77	22	1	1	585
1951	0	0	18	35	132	86	95	86	34	0	0	486
1952	0	0	22	7	257	129	116	49	12	17	0	609
1953	0	0	26	27	80	334	53	7	21	0	0	548
1954	0	0	21	118	108	220	123	40	15	0	0	645
1955	0	1	26	63	169	352	148	62	26	3	0	850
1956	0	0	36	213	125	170	116	52	1	0	0	713
1957	0	0	0	15	160	269	126	24	11	0	0	605
1958	0	0	10	97	85	0	154	58	11	0	0	415
1959	0	0	35	94	118	74	115	48	12	0	0	496
1960	0	0	5	67	132	181	80	47	4	5	0	521
1961	0	0	15	29	192	151	22	44	0	3	0	456
1962	0	0	23	95	133	263	117	23	17	0	0	671
1963	0	6	0	67	101	68	112	40	3	0	0	397
Media	0,15	0,43	15,28	78,87	159,15	188,36	131,64	58,15	19,79	3,77	0,38	655,98
1964	0	19	4	16	255	177	106	52	23	0	0	652

probabilidad de ocurrencia alrededor de su valor medio, pues los correspondientes coeficientes de variabilidad son 55,3 - 48,9 y 40,2 % para junio, julio y agosto, respectivamente. Además, la probabilidad de que en uno de esos meses no se produzcan horas de frío es de 1:28,6 años; 1:50 años y 1:133,3 años, respectivamente, lo que también muestra la menor variabilidad de agosto.

Algo similar a lo que ocurre con la variación de los valores mensuales, acontece con la cantidad total anual de las horas de frío, como

CUADRO II

Probabilidad de ocurrencia calculada en porciento de distintas cantidades de horas de frío durante el invierno en Buenos Aires.

Horas de frío	*Junio*	*Julio*	*Agosto*
50 ó más	89	94	94
100 '' ''	75	83	73
132 '' '' ($\overline{X}$ de agosto)	62	72	50
150 ó más	54	66	37
159 '' '' ($\overline{X}$ de junio)	50	63	30
188 ó más ($\overline{X}$ de julio)	37	50	15
200 ó más	32	39	10
250 '' ''	15	25	1
300 '' ''	6	12	<1
350 '' ''	2	4	<0,1
400 '' ''	<1	1	—

se desprende del cuadro I. La curva de distribución anual es asimétrica aunque su apartamiento de la simetría no llega a ser significativo, pudiéndose establecer que con una serie de más años que la analizada, los valores se ajustarán a una distribución gaussiana. Por tal motivo, como en el caso de los valores mensuales, puede calcularse la probabilidad de ocurrencia anual de horas de frío; por el mismo se determinó que las cantidades extremas de horas con temperaturas inferiores a 7° C, es decir 300 y 1100 que se produjeron en los años 1914 y 1916 de la serie de 53 analizados, tienen una probabilidad de ocurrencia de 1:50 y 1:200 años, respectivamente, lo que estaría indican-

do la mayor posibilidad de la producción de horas de frío con tendencia a los valores más bajos, presunción que será corroborada en un análisis posterior. Además, el valor medio de las horas de frío anuales tiene una desviación típica de 173 horas lo que determina un coeficiente de variabilidad de algo más del 26 % que indica una ocurrencia anual bastante variable.

3) *Incidencia de la termofase positiva diaria*

Desde el punto de vista bioclimático es importante consignar la forma en que se producen las horas de frío. Es muy distinta su acción sobre los vegetales criófilos cuando ocurren masivamente, es decir, en una sucesión de días fríos sin la alternancia con temperaturas máximas diarias elevadas, que cuando son acompañadas por estas últimas, pues un determinado número de horas de frío puede perder su efecto bioclimático favorable al incidir a continuación temperaturas máximas que ejerzan una acción devernalizante. En estudios anteriores en el mismo ambiente de Buenos Aires, se ha comprobado una diferente reacción de variedades de ciruelo según la distinta alternancia de temperaturas diarias bajas y altas durante el período de descanso de las plantas (Pascale y Ruggiero, 1963).

Ante este conocimiento, resultó interesante analizar la forma en que se distribuyen mensualmente las horas de frío según niveles térmicos que pueden tener distinta acción bioclimática durante el período de descanso de los vegetales. Para ello se computaron los 25 años (1939-1963) de los valores mensuales de cantidad de horas que se produjeron según los niveles de inferiores a 7°C, entre 7° y 14°C, entre 14° y 21°C y superiores a 21º C. A un mayor número de horas con temperaturas elevadas, deberá corresponder un menor efecto vernalizante del número de horas de frío. En el cuadro III y figura 3 se resume el valor medio de las horas mensuales según los niveles considerados y el porcentaje de cada uno de ellos en los diferentes meses de la termofase negativa anual de Buenos Aires.

Agrupados los niveles de hasta 14° C y superiores a 14° C separadamente, considerando que en el primer caso las temperaturas incluídas favorecen el descanso vegetativo o no llegan a tener efectos devernalizantes, y en el segundo que se trata de temperaturas de crecimiento o de efecto contrario a la acumulación de frío, surge que los meses más efectivos para el cumplimiento del descanso vegetativo de las especies criófilas en Buenos Aires son junio y julio, con aproxima-

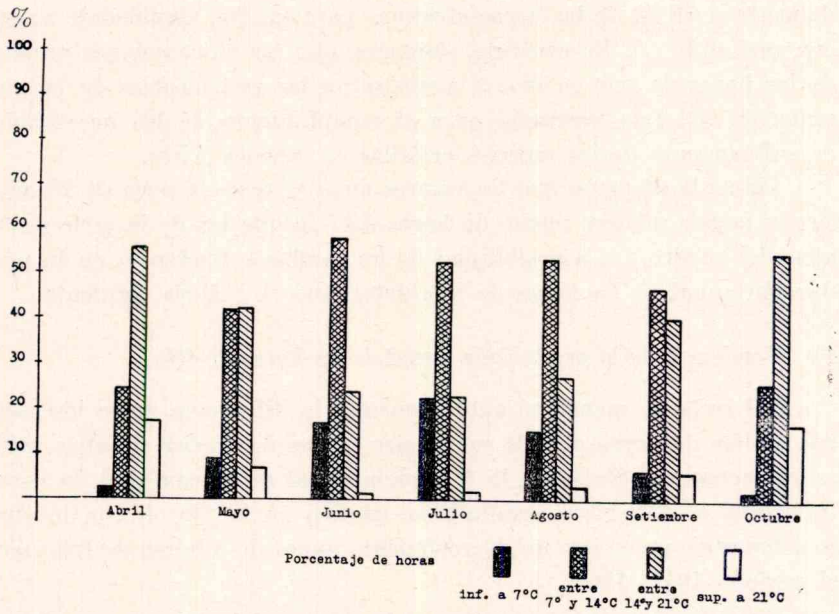


Fig. 3 — Distribución porcentual de las temperaturas horarias diarias según niveles de interés bioclimático durante la termofase negativa de Buenos Aires (período 1939-1963).

CUADRO III

Distribución porcentual de las temperaturas horarias diarias según niveles de interés bioclimático durante la termofase negativa de Buenos Aires (período 1939 - 1963)

Meses	Número de horas							
	Inf. a 7° C		Entre 7 - 14°		Entre 14- -21°		Sup. a 21°	
	Total	%	Total	%	Total	%	Total	%
Abril	17,4	2,4	176,6	24,5	401,4	55,8	124,6	17,2
Mayo	67,9	9,1	311,4	41,8	313,8	42,2	50,9	6,8
Junio	123,2	17,0	416,0	57,8	171,6	23,8	9,2	1,2
Julio	168,0	22,6	392,9	52,8	169,1	22,8	14,0	1,8
Agosto	115,9	15,6	399,8	53,6	204,5	27,5	23,8	3,1
Setiembre	46,2	6,4	339,7	47,1	290,2	40,4	43,9	6,1
Octubre	14,9	2,0	194,6	26,2	408,6	55,0	125,9	16,9

damente el 75 % de las horas efectivas para tal fin, siguiéndole agosto con casi el 70 %. Es evidente, entonces, que las fluctuaciones anuales de las horas de frío en esos 3 meses serán las responsables de la acumulación del frío necesario para el cumplimiento de las necesidades de enfriamiento de las especies criófilas en Buenos Aires.

Llama la atención que los valores mensuales de la serie de 25 años tienen menor número medio de horas de frío que los de la serie de 53 años del cuadro I. La posibilidad de un cambio o tendencia en la producción anual de las horas de frío determinó el análisis siguiente.

4) *Tendencia en la producción anual de las horas de frío*

Tal como se mencionó anteriormente, la diferencia entre los valores medios de horas de frío mensuales de las dos series de años utilizadas motivó el cálculo de la tendencia anual de la cantidad de horas inferiores a 7°C, cuyo resultado se graficó en la fig. 4, con lo cual se demuestra que existe un decrecimiento anual de 6 horas de frío para el período 1911 - 1963.

Esta disminución de las horas de frío se debe a un aumento en la temperatura media mensual que para los 53 años de la serie da una tendencia (T) positiva en los meses invernales, con los siguientes valores:

$$\text{Junio: } T = 10{,}5 + 0{,}0457\ x$$
$$\text{Julio: } T = 10{,}2 + 0{,}0265\ x$$
$$\text{Agosto: } T = 11{,}2 + 0{,}0303\ x$$

Este calentamiento progresivo podría deberse a que el Observatorio de Villa Ortúzar se fue cubriendo en sus horizontes libres con edificación y vegetación cada vez más altas, determinándose que ese lugar no representaría el mismo ambiente térmico de hace 50 años. Sin embargo, efectuado un estudio con la serie similar de años para la estación meteorológica ubicada en el Centro Nacional de Investigaciones Agrícolas Alberto Boerger de La Estanzuela, Uruguay (latitud: 34° 20′ S; longitud: 57° 44′ W; altura, 82 m) que tiene temperaturas medias mensuales casi idénticas a las de Villa Ortúzar pero con alrededores no modificados desde su instalación, se comprobó que existe la misma tendencia positiva en los valores térmicos mensuales(1).

(1) Las tendencias de las temperaturas medias mensuales de La Estanzuela fueron calculadas por personal del referido Centro de Investigaciones Agrícolas y obtenidas por intermedio del Ing. Agr. J. J. Burgos.

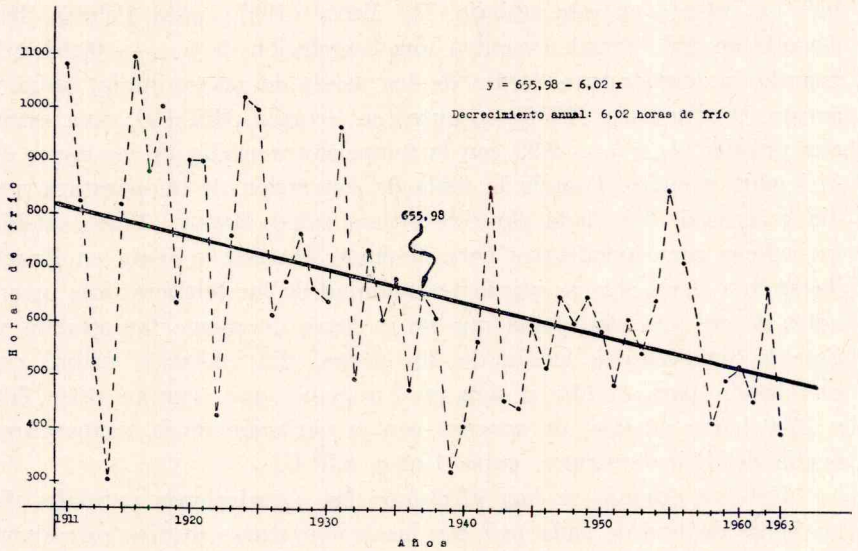


Fig. 4 — Tendencia anual en el registro de horas inferiores a 7°C en Buenos Aires para el período 1911-1963.

Se comprueba así la existencia de un aumento de la temperatura invernal de esta zona que por la reducida cantidad de años disponible para el análisis no sería conveniente aseverar que se debe a un cambio climático, sino probablemente a fluctuaciones naturales o anormalidades climáticas que pueden prevalecer sobre determinadas regiones por períodos similares a los de las series estudiadas. Se llega a esta conclusión por estudios semejantes efectuados en otras regiones de la Argentina, como la Patagonia, donde con períodos de alrededor de 60 años las diferentes estaciones meteorológicas analizadas tienen tendencias seculares prácticamente horizontales, es decir, que el régimen térmico no ha sufrido modificaciones (GALMARINI y RAFFO DEL CAMPO, 1965).

5) *Correlación entre horas de frío y temperatura media mensual*

Si bien el cómputo de horas de frío no es una tarea difícil, requiere contar con las observaciones horarias, ya sea tomadas directamente o a través de la curva termográfica respectiva. Por ello, si se encuentra un índice climático de la temperatura de fácil obtención que esté altamente correlacionado con la duración del enfriamiento por debajo de 7° C, ello representaría una simplificación en los cálculos. Esta tarea ya se realizó en otros países con señalado éxito, por lo cual tam-

bién se intentó en este trabajo. DA MOTA (1957) para Pelotas, Río Grande do Sul, Brasil, encontró una correlación de r = — 0,864 utilizando la temperatura media de los meses de mayo, junio, julio y agosto. WEINBERGER (1956) encontró en Georgia, EE. UU., una estrecha relación de r = — 0,95 con la temperatura media de los meses de diciembre y enero. Usando la tabla de conversión de temperatura media a horas de frío dada por este último autor, BARAK (1964) calculó los valores correspondientes para Mishmar Haemez y Jenin en Israel, llegando a la conclusión que la variabilidad de las temperaturas invernales de ese país determina que no se logre un ajuste tan grande al usar la temperatura media de dos meses. Sin embargo, utilizó esa correlación para dividir el país en 7 regiones que cuentan entre 300 y 1050 horas de frío, de acuerdo con la variación de la temperatura media de diciembre-enero entre 15,3 y 8,5° C.

En este trabajo se han efectuado las correlaciones parciales de las horas de frío de cada mes con las temperaturas medias correspondientes a los 53 años de la serie analizada. También se efectuaron combinaciones de temperaturas medias de 2, 3 y 4 meses con sus horas de frío respectivas, pero no se consignan los resultados de estas últimas correlaciones pues se estima que ese método podría ser útil en regímenes térmicos invernales estables, pero no en el nuestro donde en muchos años la temperatura media del mes que normalmente debe ser el más frío, es más elevada que la correspondiente al anterior o posterior, o existe una alternancia en los diferentes meses que no indica una variación bien definida sino a través de un valor medio de varios años. Por ello, a los efectos del pronóstico de horas de frío es mucho mejor trabajar con cada mes individualmente y luego sumar los parciales obtenidos para el período invernal fijado.

Los resultados obtenidos se encuentran en el cuadro IV del que surge claramente que los meses con mayor cantidad de horas de frío poseen la correlación más elevada. En la fig. 5 se ha graficado la distribución de valores correspondientes al mes de julio con el ajuste respectivo, habiéndose obtenido que cada vez que se efectúa una determinación en base a la ecuación de la línea recta consignada, se cometerá un error de 28 horas en más o en menos en el 68,27 % de los casos.

6) *Cálculo de las horas de frío correspondientes al invierno de 1964*

En el capítulo anterior se encontró la correlación existente entre el número de horas inferiores a 7° C y la temperatura media de cada

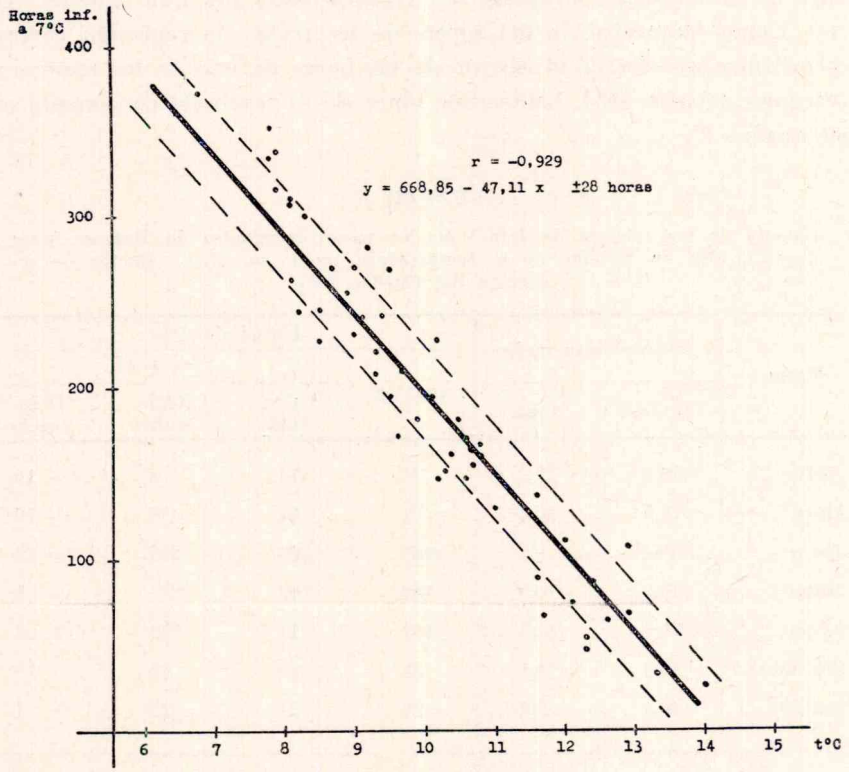


Fig. 5 — Correlación entre las horas de frío y la temperatura media del mes de julio en Buenos Aires (período 1911-1963).

CUADRO IV

Correlación entre las horas de frío y las temperaturas medias de los meses del invierno de Buenos Aires. Período 1911 - 1963

Meses	r	Rectas de regresión	Sy
Abril	—0,220	y = 56,17 — 2,43 x	± 12
Mayo	—0,873	y = 456,41 — 27,90 x	± 24
Junio	—0,934	y = 677,70 — 49,18 x	± 29
Julio	—0,929	y = 668,85 — 47,11 x	± 28
Agosto	—0,866	y = 562,78 — 38,32 x	± 26
Setiembre	—0,676	y = 344,63 — 21,45 x	± 26
Octubre	—0,508	y = 126,23 — 6,62 x	± 14

mes de la termofase negativa del termoperíodo anual de Buenos Aires. Como comprobación del ajuste de las rectas de regresión correspondientes, se efectuó el cálculo de las horas de frío de los meses invernales del año 1964, habiéndose obtenido el resultado consignado en el cuadro V.

CUADRO V

Cálculo de las "horas de frío" de los meses invernales de Buenos Aires durante 1964 en función de la temperatura media mensual. (Rectas de regresión del Cuadro IV)

Meses	Temperatura media		Horas de frío			
			1911/63	1964		
	1911/63	1964		Calculadas	Registradas	Diferencia
Abril	16,8	17,2	15	14	4	+ 10
Mayo	13,5	15,2	79	32	16	+ 16
Junio	10,5	9,2	159	225	255	— 30
Julio	10,2	10,6	188	169	177	— 8
Agosto	11,2	11,8	132	111	106	+ 5
Setiembre	13,4	14,1	58	42	52	— 10
Octubre	16,1	15,4	20	24	23	+ 1
		Total	651	617	633	— 16

Las diferencias mensuales del número calculado de horas inferiores a 7°C con relación al registrado, están dentro de la variabilidad correspondiente a una vez el error típico de estimación de cada recta de regresión y en el total invernal se cometió un error de sólo 16 horas en menos, que es ciertamente insignificante en la cantidad de 633 horas para 1964.

7) *Importancia de la temperatura invernal en el descanso vegetativo de los frutales criófilos*

Son numerosas las experiencias demostrativas que los vegetales con descanso vegetativo desprovisto de hojas durante el invierno, deben satisfacer una cierta cantidad de enfriamiento por debajo del límite térmico de crecimiento, para que sus funciones en el despertar vegetativo se cumplan satisfactoriamente.

Entre los frutales criófilos las deficiencias anotadas como consecuencia de la falta de frío invernal, son: caída de yemas, atraso de brotación, atraso y aumento en la duración de la floración, desuniformidad de tamaño y calidad de fruto, disminución de rendimiento y del vigor de la planta, etc.

Existe toda una gradación de exigencia en frío por parte de los frutales de hojas caducas, admitiéndose un orden decreciente de exigencia desde el manzano hasta el almendro, pasando por el peral, duraznero, ciruelo europeo, ciruelo japonés, cerezo y damasco. Se admite que los extremos de la escala requieren 1000 y 200 horas de temperaturas inferiores a 7° C respectivamente, pero dejando aclarado que estos son valores medios generales pues las distintas variedades poseen exigencias muy diferentes.

El ambiente de Buenos Aires con sus 650 horas promedio de frío invernal es apto para satisfacer las exigencias de los ciruelos europeos y japoneses sobre la base de las determinaciones realizadas (Pascale y Ruggiero, 1958) y estando en el límite de las necesidades del duraznero que es una especie muy sensible a las deficiencias de este factor bioclimático (Ledesma, 1951).

Debido a las variaciones que se suceden anualmente en el régimen de producción de horas de frío durante el invierno de Buenos Aires, las especies del monte frutal de la Facultad de Agronomía y Veterinaria sufren las consecuencias bioclimáticas apuntadas anteriormente y del registro fenológico que conduce la Sección Fenología del Servicio Meteorológico Nacional, se pueden extraer conclusiones interesantes del comportamiento de las distintas variedades respecto a la diferente incidencia termofásica invernal.

En los estudios mencionados anteriormente (Pascale y Ruggiero, 1958 y 1963) se determinó la correlación existente entre el número de horas de frío y el comienzo de floración de una amplia colección de variedades de ciruelo, demostrándose la dependencia existente. En esta oportunidad se han correlacionado las horas de frío ocurridas durante el descanso de los ciruelos, entre el 1º de abril y el 31 de agosto, con las diferentes temperaturas medias mensuales del período. La correlación más alta se obtuvo con el mes de julio ($r = -0{,}75$).

La dispersión de los 53 años de la serie se graficó en la fig. 6 comprobándose que la correlación lineal no es muy grande debido principalmente a lo dilatado del período de descanso, con lo que puede suponerse que otros factores inciden en la producción de las horas de frío, además de la dependencia con la intensidad de la termofase

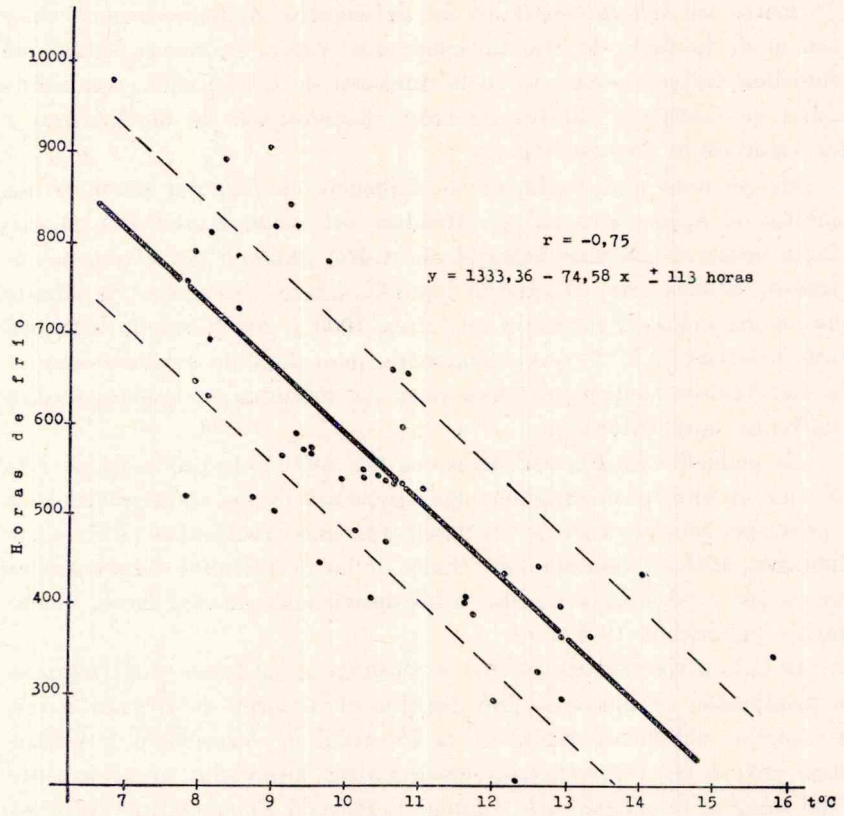


Fig. 6 — Correlación entre el número de horas de frío del período normal de descanso de los ciruelos en Buenos Aires —1º de abril a 31 de agosto— con la temperatura media del mes de julio (período 1911-1963).

invernal. No es ajena, como factor de perturbación en la correlación, la variación térmica diaria durante el extenso período de 5 meses considerado.

De cualquier forma, aplicando la recta de regresión obtenida, para el caso particular del año 1964, se obtuvieron 543 horas de frío con relación a las 558 realmente reunidas en el período 1º de abril-31 de agosto.

8) *Floración de los ciruelos durante 1964 de acuerdo con las horas de frío durante el invierno*

En el cuadro VI se ha consignado el comienzo de floración de una serie de variedades de ciruelo en dos años extremos de frío in-

CUADRO VI

Variación de la fecha de floración de algunas variedades de ciruelo —*Prunus salicina (PS), Prunus domestica (PD) y P. salicina* × *P. simonii (PS* × *PSi)*— en Buenos Aires, de acuerdo con las horas de frío durante el período de descanso.

Variedad	Especie	Fecha de comienzo de floración y días de adelanto (+) o atraso (—) con relación a la fecha media				Número de horas de frío			
		Fecha media de comienzo de floración 1940-1959	1955	1958	1964	Media 1940 - 1959	1955	1958	1964
October Purple	PS	26/VIII ± 8,9	29/VIII (—3)	31/VIII (—5)	30/VIII (—4)	496	755	352	558
Santa Rosa	PS	27/VIII ± 8,2	22/VIII (+5)	30/VIII (—3)	20/VIII (—7)	499	744	352	531
Burbank	PS	1/IX ± 10,6	24/VIII (+7)	10/IX (—9)	4/IX (—3)	514	747	391	554
Golden Japan	PS	3/IX ± 5,9	31/VIII (+3)	4/IX (—1)	4/IX (—1)	518	759	352	554
Noire Musquée	PD	7/IX ± 10,2	5/IX (+2)	20/IX (—13)	10/IX (—3)	529	779	398	564
Wright Early	PS	9/IX ± 11,4	1/IX (+8)	14/IX (—5)	4/IX (+5)	532	763	398	554
Agen	PD	16/IX ± 13,9	13/IX (+3)	29/IX (—13)	14/IX (+2)	548	795	398	583
Climax	PS × PSi	17/IX ± 14,2	5/IX (+12)	12/X (—25)	12/IX (+5)	549	779	409	583
Golden Drop	PD	22/IX ± 9,8	12/IX (+10)	4/X (—12)	18/IX (+4)	555	795	409	583
B. de Belgique	PD	27/IX ± 8,6	16/IX (+11)	15/X (—18)	26/IX (+1)	560	798	409	583
Reine-Claude	PD	30/IX ± 9,4	13/IX (+17)	18/X (—18)	24/IX (+6)	563	795	409	583
Media		11/IX ± 10,1	26/VIII (+6,8)	25/IX (—11,1)	9/IX (+0,5)	533,1	773,5	388,8	566,4

vernal, en comparación con los ocurridos en 1964. En el año 1955 que fue frío existió adelanto en la producción de la fase y en 1958 sucedió lo contrario en correspondencia con el invierno caliente que debieron soportar las plantas. Durante 1964 se produjeron 576 horas de frío que están aproximadamente dentro del valor medio del período 1940-1959. El comportamiento de las variedades de ciruelo consignadas debía estar también dentro de los valores medios de comienzo de floración de la serie analizada, cosa que realmente ocurrió, pues las variaciones de adelanto o de atraso se produjeron dentro de la desviación típica respectiva. Además, el ligero atraso en las variedades de *Prunus salicina* era de esperar, lo mismo que el ligero adelanto en las variedades de *Prunus domestica* de acuerdo con los requerimientos bioclimáticos de ambas especies y la marcha térmica inverno-primaveral.

Conclusiones

El tratamiento estadístico de las horas de frío registradas durante los inviernos de Buenos Aires, en el período 1911-1963, permitió evidenciar los siguientes puntos:

1) La cantidad anual de horas con temperaturas inferiores a 7° C promedia alrededor de 650, las que se distribuyen en todos los meses del año salvo enero que no registró ninguna hora de frío. El mes con mayor intensidad es julio, con aproximadamente 190 horas.

2) Existe gran variabilidad en el registro mensual de las horas de frío debido, sin duda, a las frecuentes advecciones de aire de distinta temperatura durante el invierno que barren libremente el territorio del país en la región pampeana. De allí, que el análisis del termoperíodo diario reveló que solamente junio y julio, y agosto en menor proporción, tienen temperaturas ciertamente efectivas para el cumplimiento de las exigencias en frío de especies criófilas, pues poseen el menor número de horas con temperaturas devernalizantes.

3) Se constató una tendencia decreciente de 6 horas de frío invernales por año, atribuyéndose tal calentamiento, más a posibles fluctuaciones naturales o anormalidades climáticas regionales, que a la modificación progresiva que fueron sufriendo los alrededores de la Estación Meteorológica de Villa Ortúzar desde su instalación.

4) Efectuada la correlación entre las horas de frío mensuales y las temperaturas medias mensuales, se obtuvieron altas correlaciones que alcanzaron para junio y julio $r = -0{,}934$ y $r = -0{,}929$, respectivamente. Las rectas de regresión obtenidas para todos los meses in-

vernales permitieron aplicar el cálculo de las horas de frío posibles durante el invierno de 1964 en base a las temperaturas invernales registradas con un ajuste satisfactorio.

5) La importancia de las horas de frío en el descanso de los frutales criófilos, se puso de manifiesto al estudiar la anomalía fenológica de atraso de floración de una serie de variedades de ciruelo cultivados en la Facultad de Agronomía y Veterinaria cuando las temperaturas invernales superan los valores medios. Asimismo, se determinó la correlación existente entre el número de horas de frío del período de descanso de los ciruelos y la temperatura media de julio que arrojó una correlación de — 0,75. Aplicada la recta de regresión para el cálculo de las horas de frío del descanso de los ciruelos y la temperatura de julio, dio un ajuste satisfactorio para el año 1964. El comportamiento de la floración de las variedades estudiadas en la primavera de 1964 estuvo de acuerdo a lo previsible según las horas de frío registradas durante el invierno, siendo ésta una comprobación más de la dependencia existente entre el descenso térmico durante el período de descanso y la floración de los frutales criófilos.

Summary

As it is well known how important is the fulfillment of cold requirements in deciduous fruit trees; there was performed a statistical survey on the degree-hours of cold that take place in winter at the environment of the Faculty of Agronomy and Veterinary Medicine.

It was proved in a record of 53 years (1911-1963) that excepting January, during the rest of the year it is possible the occurrence of temperatures lower than 7° C and that in a annual average there are totalized about 650 hours under that level; taking place with a marked annual variability.

The survey is complemented with the determination of the relation between dormancy units and the monthly average temperature, that during June and July reaches its maximum correlation of —0,93. Besides, it is presented the phenological behaviour of a series of plum trees varieties during different years with a diverse quantity of dormancy units during the rest period and it was verified the relation between that bioclimatic factor and the flowering of plants.

BIBLIOGRAFÍA

BARAK, D.: *Winter temperatures and deciduous fruit trees in Israel.* Israel Meteorological Service. Agrometeorological Bulletin 5/4: 1-7, Jan. 1964.

BURGOS, J. J. y LEDESMA, N. R.: *Las anomalías fenológicas de los árboles frutales durante el año 1939.* Revista Argentina de Agronomía, 9 (4): 295-309, Dic. 1942.

GALMARINI, A. G. y RAFFO DEL CAMPO, JOSÉ M.: *Investigación sobre la existencia de posibles cambios de clima en la Patagonia.* Consejo Nacional de Desarrollo. Proyectos Especiales, 14: 9-24, apéndices y figuras, 1965.

LEDESMA, N. R.: *La floración del duraznero y su relación con las temperaturas de invierno y primavera.* Meteoros, 1(1): 73-90, En. 1951.

MOTA, F. S. DA: *Os invernos de Pelotas, R. S., em relaçao as exigências das árvores frutíferas de fôlhas caducas.* Boletim Técnico do Instituto Agronômico do Sul Nº 18, 38 p. Maio, 1957.

NIGHTINGALE, G. T. and M. A. BLAKE (o): *Effects of temperature on the growth and composition of Stayman and Baldwin apple tree.* N. J. Agr. Exp. Sta., Bull. 566, Apr. 1934.

— (b): *Effects of temperature on the growth and metabolism of Elberta peach trees with notes on the growth responses of other varieties.* N. J. Agr. Exp. Sta., Bull. 567. N. Brunswick, 1934.

PASCALE, A. J. y RUGGIERO, R. A.: *Comportamiento bioclimático de una colección de ciruelos.* Congreso Frutícola Argentino de 1958, p. 23, rotaprint. Buenos Aires, 1958.

— *Exigencia en bajas temperaturas durante el período de descanso de los ciruelos cultivados en Buenos Aires.* IDIA, 184: 35-45, Abr. 1963.

PURVIS, O. N. and F. G. GREGORY: *Devernalization by hight temperature.* Nature. 155:113-4, 1945.

SERVICIO METEOROLÓGICO NACIONAL: *Estadísticas climáticas 1901-1950.* Publicación B_1, Nº 1, 44 p. Buenos Aires, 1958.

WEINBERGER, J. H.: *Prolonged dormancy trouble in peaches in the Southeast in relation to winter temperatures.* Proceed. of. Am. Soc. for Hortic. Sc. p. 107-112, June 1956.

REVISTA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA DE BUENOS AIRES
16 (Entrega II): 83-95 Dic. 1965

632.951: 631.576.331: 631: 563

Comportamiento de varios insecticidas utilizables en el tratamiento de depósitos de granos

POR

R. H. QUINTANILLA y H. E. S. DE GONZÁLEZ, Ings. Agrs. (*)

Introducción

Son bien conocidos los enormes perjuicios que ocasionan los insectos y ácaros que atacan a los granos almacenados, cuya acción depredadora determina ingentes pérdidas que ascienden a varios miles de millones de pesos anuales. Resulta entonces superfluo señalar que el combate de tales plagas debe hacerse en forma enérgica, permanente y racional, única manera de contrarrestar sus perniciosos efectos sobre los cereales almacenados, sobre todo si se tiene en cuenta que la exportación de sus excedentes constituye una considerable fuente de ingreso de divisas tan necesarias para lograr el restablecimiento del equilibrio económico del país.

Por lo tanto, adquieren indiscutiblemente gran trascendencia las investigaciones que encaran el perfeccionamiento de los tratamientos tendientes a evitar el ataque de gorgojos, carcomas, palomitas y otros insectos y de ácaros a los granos almacenados, o incorporan nuevos métodos o plaguicidas con la misma finalidad, así como aquellas que procuran reducir de idéntica manera la actividad destructiva de tales plagas en los granos ya infestados.

Una de las prácticas ineludibles en todo proceso de conservación de granos, la constituye la limpieza y desinfección de los locales, silos u otras instalaciones en donde se procederá posteriormente a almacenar los cereales. Son varios los métodos que pueden aplicarse para el tratamiento de los ambientes mencionados precedentemente. El de las

(*) Profesor titular y Ayudante 1° (contratada), respectivamente, del Departamento de Patología Vegetal, orientación Zoología Agrícola de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires.

nieblas es uno de los que actúa en forma directa sobre los insectos que se encuentran en las paredes o pisos de un local o desplazándose en el espacio libre, pero el procedimiento más conveniente consiste en proyectar el insecticida de manera que forme una película que mate no sólo a los insectos que se encuentran expuestos en el momento de la aplicación, sino a aquellos que posteriormente pasarán sobre la superficie tratada.

El primer método es el menos ventajoso pues la buena ventilación o renovación de aire en los ambientes tratados elimina rápidamente las nieblas. En cambio, resulta mucho más eficaz el tratamiento de los locales con pulverizaciones de productos que forman una película que se extiende uniformemente, para lo cual deberá proyectarse el líquido en gotas suficientemente pequeñas como para lograr tal finalidad, pero sin necesidad de que sean tan reducidas como para que floten en el ambiente como en el caso de las nieblas.

Desde luego, la estabilidad química de las sustancias empleadas es de fundamental importancia para la persistencia de la película durante un tiempo determinado sobre las superficies tratadas.

En el presente estudio se aplicó un método de laboratorio con la finalidad de determinar la eficacia y persistencia de varios insecticidas que pueden ser empleados, precisamente, en el tratamiento de locales o depósitos, previamente al almacenaje de cereales. Se llevó a cabo una ponderación del comportamiento de cuatro insecticidas formulados como polvos mojables y uno como polvo soluble, dejando para una etapa posterior un estudio similar de otros productos formulados como concentrados emulsionables. Se trató de determinar la residualidad de compuestos químicos que actúan por contacto —aunque pueden hacerlo además por otras vías— y con la propiedad de que las películas resultantes de su aplicación sobre superficies pueden matar a los insectos que se desplazan por ellas, durante espacios de tiempo sumamente variables y dependientes de la naturaleza de cada uno de dichos compuestos.

El método aplicado fué similar al descripto por WALKER (1960), que consiste en utilizar cajas de Petri con ambas superficies interiores cubiertas con dos hojas de papel de filtro que se adaptan perfectamente, incluyendo también los bordes internos de las cajas. Se consideró este método como muy apropiado para ensayos de laboratorio, pues los insectos que se colocan en el interior de las mencionadas cajas se hallan siempre en contacto con los papeles citados. Dado que estos últimos son tratados con los insecticidas antes de su colocación en el

interior de las cajas, los insectos utilizados en cada ensayo no pueden eludir el permanente contacto con dichos papeles durante todo el período de exposición a que se los somete.

KANTACK Y LAUDANI (1957) llevaron a cabo experiencias con distintas formulaciones de productos insecticidas contra larvas y adultos de la "polilla de las frutas secas" (*Plodia interpunctella*), utilizando un método que tiene alguna similitud con el que se adopta en estas experiencias. En efecto, utilizaron hojas de papel "kraft" cubiertas con delgadas láminas de aluminio impregnadas con los insecticidas ensayados y que sirvieron como superficies de contacto.

VINCENT y LINDGREN (1957) señalaron los distintos métodos que podían utilizarse en la evaluación de laboratorio para insecticidas de contacto contra insectos de granos almacenados. Indicaron como eficaces para tal fin el tratamiento de superficies de vidrio o papeles de filtro en los que se confinaban los insectos y la aplicación de tópicos de insecticidas a los propios insectos. Aplicaron este último método, similar al puesto en práctica por MARCH y METCALF (1949), mediante tópicos en el pronoto de los insectos, ensayando diferentes concentraciones de alrededor de veinte compuestos previamente disueltos en acetona.

MATERIAL Y MÉTODO

De acuerdo con el método de WALKER ya indicado, los papeles de filtro utilizados en nuestro caso se sumergieron en las suspensiones de insecticidas, luego escurridos, posteriormente suspendidos hasta quedar completamente secos, y por último colocados en el interior de las cajas de Petri en la forma descripta anteriormente. Se utilizó papel de 11 cm de diámetro y una capacidad de absorción de 1 ml de agua destilada por hoja.

A los efectos de asimilar el ensayo de laboratorio a las condiciones prácticas de un tratamiento de paredes de un depósito, se cubrió un metro cuadrado de superficie con el líquido proyectado con un pulverizador de mano, lo que arrojó un promedio de 100 ml. Se uniformó la dosis de insecticidas al mismo nivel (2,5 %) de sustancia activa para todos los productos ensayados, obteniéndose así la misma cantidad de principio activo por unidad de superficie en todos los casos. Se partió de una dosis inicial de 2,5 % equivalente a 0,25 mg/cm^2, y teniendo en cuenta que cada papel de filtro tenía una superficie de 95,033 cm^2, se estableció que la cantidad de sustancia activa para cada uno de ellos era de 23,758 mg, que se diluyeron en cada ml de agua de acuer-

do a la absorción del papel de filtro antes indicada. Por ello la concentración para cada producto resultó en definitiva de 2,3 % en lugar de 2,5 %. Se emplearon en la evaluación los siguientes insecticidas y formulaciones:

—DDT (2,2-bis (p-clorofenil)-1, 1, 1-tricloroetano) - Polvo mojable al 50 %.
—Lindano (γ 1, 2, 3, 4, 5, 6 - hexaclorociclohexano) - Polvo mojable al 25 %.
—Metoxicloro (2, 2-bis (p-metoxifenil)-1, 1, 1-tricloroetano) - Polvo mojable al 50 %.
—Nexion (1) (0, 0-dimetil-0-2, 5-dicloro-4-bromofenil-tionofosfato) - Polvo mojable al 25 %.
—Dípterex (0,0-dimetil (1-hidroxi-2, 2, 2-tricloroetil) fosfonato) - Polvo soluble al 80 %.

Para obtener la concentración de sustancia activa establecida, las diluciones de estos insecticidas se efectuaron en 500 ml de agua destilada, utilizándose las cantidades detalladas a continuación:

—DDT	24,2 gr
—Lindano	51 gr
—Metoxicloro	24,2 gr
—Nexion	51 gr
—Dípterex	14,8 gr

Se ensayó, como queda dicho, una dosis única para todos los productos, empleándose tres cajas de Petri para cada uno de ellos, disponiéndose así de tres repeticiones; para el testigo, también por triplicado, los papeles de filtro se sumergieron en agua destilada en lugar de hacerlo en la suspensión de insecticida, y previamente a su colocación en el interior de las cajas, igualmente se escurrieron y suspendieron hasta quedar totalmente secos.

Se experimentó con adultos de dos especies de insectos cuya presencia es frecuente en los locales de almacenaje de granos y que ade-

(1) Este insecticida fué facilitado directamente por la casa Cela Landw. Chem. Gmb. H. (Ingelheim am Rheim, Alemania Occidental) con el número de código CA 6312, asignado a la formulación polvo mojable al 25 % del compuesto Cela S 1942, denominación experimental del 0,0-dimetil-0-2,5-dicloro 4-bromofenil tionofosfato, desarrollado por la citada empresa. Con posterioridad la casa Cela otorgó el nombre comercial de "Bromophos" a la sustancia antes identificada como Cela S 1942, y "Nixion W P 25" a la formulación polvo mojable al 25 %. Se tiene conocimiento de que una firma comercial del país ha iniciado ya la tramitación necesaria para obtener la aprobación oficial del referido insecticida.

más son de difusión cosmopolita: el gorgojo *Sitophilus oryza* (L.) y la carcoma *Tribolium confusum* (Duv.).

A los efectos de determinar la efectividad y persistencia de cada uno de los productos ensayados se proyectó el plan que se consigna seguidamente:

1ª Observación: Inmediata al tratamiento.
2ª „ : A las dos semanas del tratamiento.
3ª „ : A las cuatro semanas del tratamiento.
4ª „ : A las seis semanas del tratamiento.
5ª „ : A los dos meses del tratamiento (1).
6ª „ : A los tres meses del tratamiento.
7ª „ : A los cuatro meses del tratamiento.
8ª „ : A los cinco meses del tratamiento.
9ª „ : A los seis meses del tratamiento.

En todos los casos los tiempos de contacto para verificar la mortalidad fueron de 24 y 48 horas, es decir que los insectos se colocaron en el interior de las cajas de Petri en cada observación, controlándose la mortalidad a las 24 y 48 horas de exposición. En los intervalos de tiempo entre cada observación las cajas permanecieron abiertas en el laboratorio, manteniéndolas cerradas únicamente durante las 24 ó 48 horas de exposición señaladas para cada observación.

En este ensayo de toxicidad comparativa de varios productos químicos, los datos fueron expresados en términos porcentuales de la mortalidad registrada en cada observación, que en todos los casos fue corregida mediante la aplicación de la clásica fórmula de Abbot (1925).

La determinación de la mortalidad fue motivo de un estudio detenido en razón del variado efecto tóxico observado en los insectos tratados, habiéndose consultado con tal objeto no sólo la bibliografía sobre el tema, sino también a un destacado especialista en la materia, el Dr. D. A. Wilbur (2), profesor de Entomología de la Universidad de Kansas (EE. UU.) Ello nos permitió adoptar un criterio que puede ser estimado satisfactorio para propósitos prácticos, consistente en considerar como *muertos* no sólo a aquellos insectos en los que se comprobó cese total de movimientos y ninguna reacción al tocarlos o acercarles la luz de una lámpara, sino también a aquellos que por hallarse

(1) Corresponde aclarar que esta observación se hizo, en el caso de *T. confusum*, a las 10 semanas en lugar de dos meses, por no disponerse en ese momento de suficiente cantidad de adultos de dicha especie.
(2) Comunicación personal (25-V-64).

CUADRO 1

Porcentajes de mortalidad registrados para adultos de Sitophilus oryza

	1ª Observ. (inmediata)		2ª Observ. (2 semanas)		3ª Observ. (4 semanas)		4ª Observ. (6 semanas)		5ª Observ. (2 meses)		6ª Observ. (3 meses)		7ª Observ. (4 meses)		8ª Observ. (5 meses)		9ª Observ. (6 meses)	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
D D T	100	100	43	100	57	61	42	80	1	3								
L I N D A N O	100	100	40	100	86	100	0	3										
METOXICLORO	79	91	79	100	67	100	56	96	4	9								
N E X I O N	100	100	100	100	100	100	95	100	82	100	98	100	98	100	100	100	50	100
D I P T E R E X	33	100	57	100	7	98	2	100	0	84	0	2						

CUADRO 2

Porcentajes de mortalidad registrados para adultos de Tribolium confusum

	1ª Observ. (inmediata)		2ª Observ. (2 semanas)		3ª Observ. (4 semanas)		4ª Observ. (6 semanas)		5ª Observ. (10 semanas)		6ª Observ. (3 meses) *		7ª Observ. (4 meses)		8ª Observ. (5 meses)		9ª Observ. (6 meses)	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
D D T	100	100	78	100	56	94	34	100	26	98			69	100	60	90	70	76
L I N D A N O	100	100	77	100	54	57	12	12										
METOXICLORO	95	97	94	97	89	96	74	90	100	100			100	100	29	62	27	49
N E X I O N	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100			100	100	96	100	100	100
D I P T E R E X	27	79	47	95	10	90	2	100	0	80			23	67	19	74	0	0

* Esta observación no pudo ser llevada a cabo por inconvenientes circunstanciales.

en posición dorsal, es decir, invertidos, y moviendo en forma muy débil sus patas, antenas o piezas bucales, al volverlos a su posición natural no se desplazaban.

Contribuyó a afianzar la adopción del criterio señalado la comprobación de que los insectos observados en las condiciones descriptas en último término, en ningún caso recuperaban su vigor y "status" normal, aún cuando fueran llevados a un medio absolutamente favorable y con alimento a su disposición. Vale decir, que en todos los casos la condición de "coma" en que se hallaban era irreversible y la muerte una consecuencia natural e inevitable de dicho estado, tal como pudo verificarse mediante pruebas individuales con todos los productos ensayados.

Análisis de los resultados

Los porcentajes de mortalidad registrados en cada una de las observaciones efectuadas conforme a la periodicidad preestablecida, es decir, desde la sumersión de los papeles en las suspensiones insecticidas hasta llegar a los seis meses, se consignan en los cuadros 1 y 2 y en las correspondientes representaciones gráficas (Fig. 1). El análisis de los valores precedentes permite formular las consideraciones siguientes:

DDT. — Este insecticida se comportó inicialmente muy bien tanto para *S. oryza* como para *T. confusum*, pero a partir de la segunda observación (2 semanas) decreció su acción tóxica en las primeras 24 horas, si bien a las 48 horas el efecto continuó con su valor más alto (100 % de mortalidad). Para *T. confusum* la efectividad se mantuvo, en las condiciones antedichas, con muy ligeras variantes hasta los cinco meses en que se observó un 90 % de mortalidad a las 48 horas de contacto, para descender al 76 % al cabo de seis meses.

Para *S. oryza*, los porcentajes de mortalidad se redujeron al 61 % a las cuatro semanas para volver a ascender al 80 % en la observación siguiente (seis semanas), a partir de la cual la mortalidad decreció sensiblemente dejando de ser significativa.

Lindano. — La acción tóxica de este compuesto se mostró elevada inicialmente, comprobándose que al igual que el DDT, posteriormente disminuyó su efectividad en las 24 horas para registrar el máximo de mortalidad a las 48 horas de contacto, manteniéndola hasta las cuatro semanas para *S. oryza*, y sólo hasta las dos semanas para *T. confusum*, ya que para éste, luego de cuatro semanas, sólo se comprobó un 57 % de mortalidad. Los porcentajes registrados posteriormente alcanzaron

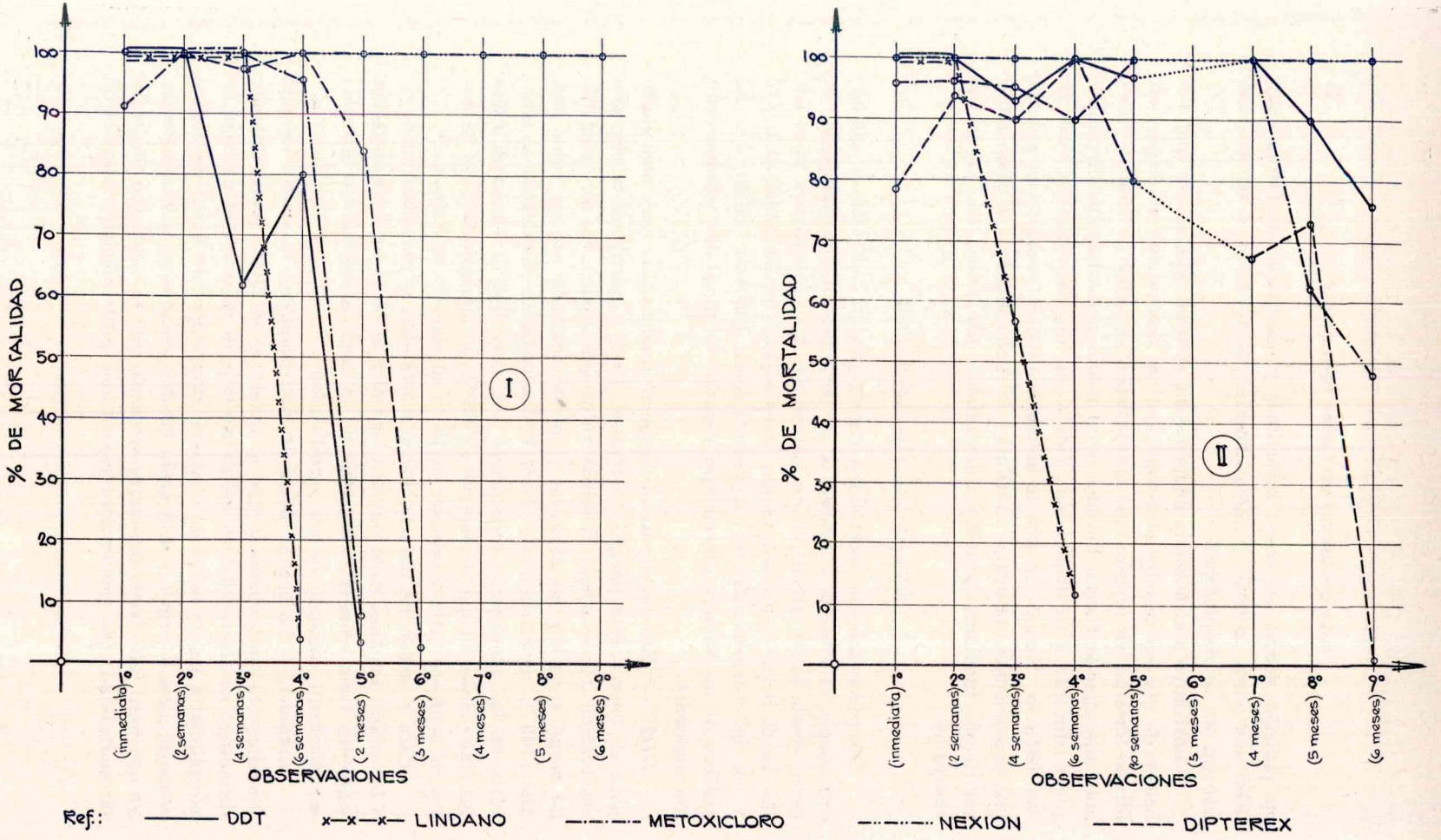


Fig. 1. — Mortalidad registrada en cada observación para *Sitophilus oryza* (I) y *Tribolium confusum* (II) con los diferentes insecticidas ensayados.

el 3 % para *S. oryza* y el 12 % para *T. confusum*, careciendo en absoluto de significación.

Se deduce, por lo tanto, que su persistencia es reducida bajo las condiciones en que se efectuaron las experiencias.

Metoxicloro. — El comportamiento de este clorado puede calificarse de satisfactorio hasta las observaciones practicadas al cabo de seis semanas para *S. oryza* y de cuatro meses para *T. confusum*. Para la primera especie, con posterioridad a la observación señalada, la mortalidad registrada dejó de tener significación alguna; en tanto que para la segunda las observaciones realizadas a los cinco y seis meses arrojaron valores de 62 % y 49 %, respectivamente.

Evidentemente, este insecticida ejerce una acción tóxica más prolongada sobre *T. confusum* que sobre *S. oryza*, reflejada por una mayor efectividad a través del tiempo.

Nexion. — Los resultados obtenidos con este insecticida fueron realmente promisores, pues desde la primera hasta la última observación registró el más alto nivel de mortalidad, para ambas especies de insectos experimentadas, siendo asimismo de destacar su notable comportamiento a las 24 horas de contacto en todas las observaciones efectuadas. Su uniforme y elevada efectividad, así como su prolongado poder residual, lo colocan a la cabeza de todos los productos experimentados. Todo ello, sumado a la particularidad de presentar una muy baja toxicidad para los animales de sangre caliente, ya que su LD 50 es de 3750 mg/kg, permiten señalarlo como un compuesto de interesantes posibilidades futuras.

Dípterex. — La acción tóxica de este compuesto se manifestó con registros del 100 % de mortalidad para *S. oryza* hasta la observación practicada al cabo de seis semanas, para descender al 84 % en la observación posterior (2 meses), y dejar de tener significación en la subsiguiente (3 meses), con sólo un 2 % de mortalidad. Para *T. confusum*, si bien inicialmente sólo se registró un 79 % de mortalidad, los valores posteriores alcanzaron niveles más significativos, llegando al 100 % al cabo de seis semanas para descender en las observaciones posteriores hasta un 74 % de mortalidad en la practicada a los cinco meses, y caer bruscamente a cero en la siguiente, es decir, al cabo de seis meses.

Debe admitirse, en consecuencia, que el comportamiento del Dípterex tuvo cierta falta de uniformidad en su acción sobre *T. confusum*, no obstante el valor de mortalidad obtenido luego de cinco meses de iniciado el ensayo.

Cabe señalar asimismo que en casi todas las observaciones efectuadas con este compuesto, la mortalidad comprobada a las 24 horas de contacto con el insecto fué notoriamente baja en comparación con los registros obtenidos a las 48 horas, tal como puede verificarse en los cuadros correspondientes. Ello permite inferir que requiere lapsos más prolongados de exposición para que se note su acción insecticida.

En cuanto a su efectividad sobre *S. oryza*, es de menor amplitud, ya que después de los dos meses la mortalidad registrada resultó extremadamente baja.

Conclusiones

Los resultados de las pruebas de laboratorio, asimilables al tratamiento de locales e instalaciones destinados al almacenaje y conservación de granos, permiten extraer las siguientes conclusiones:

1º — Todos los insecticidas estudiados, es decir: Nexion, DDT, metoxicloro, Dípterex y lindano, registraron valores de mortalidad que oscilaron entre 91 % y 100 % para ambas especies de insectos experimentales (*Sitophilus oryza* y *Tribolium confusum*), con la única excepción del Dípterex para *T. confusum* que señaló sólo 79 %, en la observación inmediata al tratamiento. De ello se infiere que cualquiera de dichos insecticidas, con la salvedad apuntada, podría ser aconsejado para aquellos casos en que no interesa mayormente el poder residual.

2º — El compuesto Nexion presentó un elevado poder residual ya que su efectividad se mantuvo uniformemente al más alto nivel, tanto para *S. oryza* como para *T. confusum* hasta la última observación practicada al cabo de seis meses.

3º — El DDT conservó su efectividad máxima hasta las dos semanas para *S. oryza* y hasta los cuatro meses para *T. confusum*.

4º — El metoxicloro registró valores de mortalidad del 96 % para *S. oryza* al cabo de seis semanas y de 100 % para *T. confusum* luego de cuatro meses.

5º — El Dípterex acusó el máximo de eficacia hasta las seis semanas para *S. oryza*, en tanto que para *T. confusum* si bien inicialmente la mortalidad sólo fue del 79 %, con posterioridad, al cabo de seis semanas, los registros alcanzaron el más

alto nivel. Cierta irregularidad en su comportamiento sobre esta última especie induce a señalar la necesidad de ampliar las investigaciones sobre el mismo.

6º — El lindano se mostró como el insecticida de menor poder residual, pues su efectividad máxima se extendió hasta las cuatro semanas para *S. oryza* y sólo hasta las dos semanas para *T. confusum*.

Resumen

En este trabajo se empleó un método de laboratorio tendiente a determinar la eficacia y persistencia de varios insecticidas que pueden ser empleados en el tratamiento o desinfección de locales, silos u otras instalaciones previamente al almacenaje de cereales y con la finalidad de destruir los gorgojos, carcomas, palomitas y otros insectos.

Se trata de una primera etapa de investigaciones en la que se llevó a cabo una ponderación del comportamiento de cuatro insecticidas formulados como polvos mojables y uno como polvo soluble. Principalmente se procuró determinar la residualidad de varios compuestos químicos que tienen la propiedad de que las películas resultantes de su aplicación pueden matar a los insectos que se desplazan sobre ellas durante espacios de tiempo variables.

Fueron ensayados los insecticidas y formulaciones siguientes: DDT (polvo mojable al 50 %), lindano (polvo mojable al 25 %), metoxicloro (polvo mojable al 50 %), Dípterex (polvo soluble al 80 %) y Nexion (polvo mojable al 25 %).

En cuanto a los insectos, se utilizaron adultos de *Sitophilus oryza* (L.) y *Tribolium confusum* (Duv.), cuya presencia es frecuente en los locales de almacenaje de granos y que además son de difusión cosmopolita.

Las observaciones, a los efectos de controlar la efectividad y persistencia de los productos ensayados, se llevaron a cabo en forma periódica, efectuando la primera observación inmediatamente después del tratamiento y posteriormente varias veces más hasta llegar a nueve al cabo de seis meses.

El insecticida que mejor se comportó fue el *Nexion*, que desde la primera hasta la última observación registró el más alto nivel de mortalidad, tanto para *S. oryza* como para *T. confusum*.

En orden decreciente y con variabilidad en su comportamiento sobre cada una de las especies de insectos experimentales, pueden ubi-

carse metoxicloro, DDT, Dípterex y lindano, cuya residualidad en todos los casos fue menor que la registrada para Nexion.

Summary

In this work we used a laboratory method with view to determinate the effectiveness and persistency of several insecticides that may be employed to desinfest rooms, silos or other buildings before storing grains in them. Our purpose was to destroy the weevils, grain moths and other insects.

This was the first step of our research. During it we performed a pondering of the behavoir of four insecticides formulated as wettable powders and one as soluble powder.

Our most important purpose was to determinate the residuality of several chemical compounds that produce a film when spraid or applied and are able to kill the insects that move over it during variable time rates.

The following insecticides and formulations were tested: DDT (wettable powder at 50 %), lindane (wettable powder at 25 %), methoxichlor (wettable powder at 50 %), Dipterex (soluble powder at 80 %) and Nexion (wettable powder at 25 %).

With reference to the insects, we used adults of *Sitophilus oryza* (L.) (''rice weevil'') and *Tribolium confusum* (Duv.) (''confused flour beetle'') that frequently appear were grains are stored. Besides, these insects are well known all over the world.

The observations were performed periodically, with view to control the effectiveness and persistency of the tested products. The first observation was performed inmediately after the treatment and then several times more, completing nine observations during six months.

We consider the best insecticide is *Nexion* that since the first up to the last observation recorded the highest mortality for both *S. oryza* and *T. confusum*.

In decreasing order, and with diverse effectiveness for each insect studied, we may place methoxychlor, DDT, Dipterex and Lindane, whose residuality was always lower than the one recorded with Nexion.

BIBLIOGRAFIA

ABBOT, W. S. *A method of computing the effectiveness of an insecticide.* Jour. Econ. Entomology 18 (3): 265-267, 1925.

KANTACK, B. H. y LAUDANI H. *Comparative laboratory tests with emulsion and wettable powder residues against the Indian meal moth.* Jour. Econ. Entomology 50 (4): 513-514, 1957.

MARCH, R. B. y METCALF, R. L. *Laboratory and field studies of DDT resistant houseflies in Southern California.* California, Dep. of Agriculture. Bulletin 38 (2): 93-101, 1949.

VINCENT, L. E. y LINDGREN, D. L. *Laboratory evaluation of contact insecticides on three species of stored products insects.* Jour. Econ. Entomology, 50 (3): 372-373, 1957.

WALKER, D. W. *Population, fluctuation and control of stored grain insects.* Washington, Agricultural Experiment Station. Technical Bulletin, 31, 66 p., 1960.

REVISTA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA DE BUENOS AIRES
16 (Entrega II): 97-108 Dic. 1665

577.154.31: 631.531.1: 633.15

Acción de la N(2-4 Diclorofenil) Glicinhidracida y de la O(2-4 Diclorofenil) Acetilhidracida sobre la actividad amilásica de semillas de maíz en germinación

POR

CEFERINA R. ORDÓÑEZ (*), MARÍA H. C. K. DE RIVERÓS (**)
EUGENIO E. VONESCH (***)

El efecto fitotóxico de la N(2-4 diclorofenil) glicinhidracida (I) y de la O(2-4 diclorofenil) acetilhidracida (II), estudiado en la germinación y el desarrollo de semillas de maíz, tomate y trigo, con producción de lesiones histotóxicas de tipo citoplasmático, motivó el examen de algunos aspectos enzimáticos relacionados con la acción de estos compuestos ([10]). Los mismos ([11]) observaron además, que en las semillas tratadas, el almidón del cotiledón adquiría un aspecto viscoso y un aparente retardo en su utilización como material de reserva. Al estudiar la actividad amilolítica de semillas tratadas con dichos compuestos, se verificó la producción de glúcidos solubles, juntamente con los aminoácidos, por depender de aquel proceso enzimático.

La separación e identificación de las amilasas que actúan en las primeras etapas de la germinación de las semillas amiláceas es dificultosa, razón por la cual no se intentó fraccionarlas. Procediéndose de acuerdo con Whelan ([12]), apreciando el conjunto amilásico alfabeta y el de las amilasas Q-R, por ajustes de la reacción del medio, a los valores de pH óptimos, de 5 y 7 respectivamente. La actividad amilolítica de las semillas fue estimada por valoración de los glúcidos reductores producidos sucesivamente y en un lapso de 20 días; identificando los glúcidos solubles y los aminoácidos producidos simultáneamente por cromatografía sobre papel. También se observó la in-

(*) Profesora Adjunta de Química Biológica.
(**) Investigadora contratada.
(***) Profesor Titular de Química Biológica.

fluencia de la luz en los procesos germinativos de las semillas tratadas.

En este estudio se intentó relacionar el efecto aparentemente fitotóxico de estos compuestos con la actividad amilásica; el cual se manifiesta por una acción retardante en el desarrollo de las plántulas de las semillas tratadas con respecto de las testigos.

Parte experimental

Materìal botánico

Semillas de maíz: Zea Mays-L, híbrido Funk G.203, cosecha 1962.

Compuestos ensayados

Se emplearon las siguientes hidrácidas: la N)2-4 diclorofenil) glicinhidrácida de P.F. 116-118° C, y la O(2-4 diclorofenil) acetilhidrácida de P.F 155-157°C (8) en solución acuosa conteniendo 0,2 g ‰.

Tratamiento y germinación

Las semillas se someten antes de su germinación a un tratamiento con las soluciones de la sustancia activa. Consiste en mantenerlas por 24 hs. en remojo con las soluciones de I y II, y a continuación disponerlas en un germinador sistema "Koening", donde se las mantiene mientras dura la experiencia. Las semillas no reciben ningún agregado de nutrientes durante su desarrollo y solamente se repone el agua perdida por evaporación.

Los ensayos se realizaron bajo la acción de la luz difusa y en completa oscuridad; en este último caso con el germinador tapado.

Simultáneamente con los ensayos se llevaron los correspondientes testigos.

Determinación de la actividad amilásica

Se siguió la técnica de Myers y col. (4), por formación del ácido picrámico, y adaptada para este material. La reacción cromática resultante fue aplicada para su determinación fotocolorimétrica al espectrofotómetro Jobin Ivon, Maroc II, ajustado a 5180 Å.

Soluciones reguladoras de pH 5 y 7

Se utilizó la solución de acetato de sodio/ácido acético para la pri-

mera, y para la segunda la de fosfato disódico/fosfato monopotásico de Sörensen.

Técnica

Se pesan tres o cuatro semillas, que se trituran en un mortero y se malaxan con 10 ml de agua destilada; filtrando el líquido por algodón laxo. En el tubo Nº 1 o problema se colocan: 1 ml del extractivo filtrado, 3 ml de solución reguladora de pH = 5,0 (o pH = 7,0) y 1 ml de solución de cloruro de sodio 0,1 M. Se incuba el tubo en baño maría a 40° C durante 15 minutos.

En el tubo Nº 2 o blanco se disponen: 3 ml de solución reguladora, 1 ml de solución de cloruro de sodio 0,1 M y se lo incuba junto con el problema a la misma temperatura y por el mismo tiempo.

Transcurrido ese lapso se quitan del baño y se los enfría.

Al tubo Nº 1 se le agrega 0,50 g de ácido pícrico sólido y se filtra; al tubo Nº 2 se le agrega: 1 ml del extractivo y 0,50 g de ácido pícrico sólido, y se filtra.

En sendos tubos se colocan 1 ml del filtrado del tubo Nº 1 y 1 ml del filtrado del tubo Nº 2, se les agrega 1 ml de solución saturada de carbonato de sodio. Se disponen en baño maría hirviente durante 20 minutos. Luego se los enfría en baño de agua. Se trasvasa cuantitativamente el líquido a matraces aforados de 100 ml, que se completan a volumen con agua destilada.

El objeto del blanco para cada ensayo, es al efecto de la corrección de los glúcidos solubles ya presentes y que no derivan de la acción amilásica.

Los datos obtenidos de las lecturas fotocolorimétricas y calculados en base a la curva de calibración establecida previamente, dan el contenido en glúcidos reductores.

La actividad amilásica se valoró al 5º, 8º, 12º, 15º y 19º días, contados desde la iniciación del tratamiento. Los ensayos estuvieron limitados a 19-20 días, por ser el lapso máximo que permitió mantener las plántulas libres de hongos. Se evitó el agregado de sustancias mico y bacteriostáticas para no influir sobre la acción enzimática.

Identificación cromatográfica de los glúcidos solubles

Se aplicó la técnica de Partrigde ([6]). El extractivo se preparó triturando en mortero tres semillas de peso total 500-600 miligramos y extrayendo los glúcidos solubles con 3 ml de agua destilada. Cada

cromatograma se sembró con 0,12 µl; para cada tratamiento por separado y en las distintas fechas. Se usó papel S&S 2043 bm; fase móvil piridina, n-butanol, agua (40:60:30).

Identificación cromatográfica de aminoácidos

Se aplicó la técnica de Partrigde (7). La correspondiente extracción se efectuó también sobre tres semillas de peso similar, con la mezcla de etanol-agua (2:1). Las siembras se realizaron en cada caso con 0,12 µl.

Resultados

Los resultados obtenidos de la actividad amilásica de las semillas germinadas en la oscuridad y en la luz se resumen en los correspondientes gráficos (1-4) y cuadros (I y II).

Los cromatogramas de los glúcidos permitieron identificar a los siguientes azúcares: glucosa, fructosa, galactosa, maltosa y una diotriosa no individualizada con un Rf = 0,24 (5). De ellos, la maltosa aparece recién al 8º día. La glucosa desaparece al 8º día, para reaparecer nuevamente hacia el 15º día. La sacarosa estaba siempre presente a partir del 5º día (9).

Los aminoácidos identificados al 8º y 15º día fueron los siguientes: alanina, ácido aspártico, ácido glutámico, cistina, isoleucina, fenilalanina, hidroxiprolina, lisina, prolina, serina, tirosina, triptófano y valina. En lo que se refiere a los glúcidos y aminoácidos identificados no se observaron mayores diferencias entre las tratadas y las testigos, germinadas a la luz o en la oscuridad.

Al relacionar las actividades amilásicas con las tallas de las plántulas, se observó un mayor tamaño de las raíces y coleoptilos en las testigos que en las tratadas, durante toda la experiencia; en tanto que la actividad amilásica es mayor en las tratadas (con I y II) que en las semillas control (cuadro IV).

Discusión

El conjunto de los datos obtenidos permitió establecer que las semillas tratadas y desarrolladas a la luz difusa presentan un máximo de actividad amilásica alfa-beta entre el 8º y el 12º día, lo que estaría de acuerdo con los resultados de Dure (2), que halló dicha actividad máxima al 10º día pero sin tratamiento alguno. En los ensayos realizados

se observa que al 19º día, en las tratadas la actividad alfa-beta amilásica mantiene valores similares a los del 15º día, en tanto que en los controles su acción se ha anulado.

Con respecto a las amilasas Q y R existen discrepancias acerca de su identidad. Hobson aisló la enzima R ([3]). Whelan sostiene la identidad de Q y R ya que la enzima R actúa modificando la ubicación de las hélices de amilopectina y favorecería la acción de la beta-amilasa, permitiendo la formación de maltosa y maltoriosa, a partir de la amilopectina. En cambio la enzima Q sería una transglucosidasa ([3-12]).

Ambas poseen un pH óptimo de acción de alrededor de pH 7. La actividad máxima de estas enzimas, tanto en las semillas tratadas como en las no tratadas ocurre al 8º día, pero estas últimas dan valores mayores (cuadro II).

El tratamiento con I y II para las semillas germinadas a la luz difusa se manifestaría por un retardo en la acción de las amilasas Q-R. En los ensayos mantenidos en la oscuridad se comprueba una actividad mayor de todo el conjunto amilásico de las tratadas, respecto a las no tratadas.

Conclusiones

De los ensayos efectuados sobre la actividad amilásica de la N(2-4 diclorofenil) glicinhidrácida y de la O(2-4 diclorofenil) acetilhidrácida sobre el conjunto amilásico de semillas de maíz en los primeros 19º días de su desarrollo se ha llegado a las siguientes conclusiones:

1º) Las dos hidrácidas ensayadas exaltan en distinto grado, tanto a la luz como en la oscuridad la actividad amilásica, que presenta un máximo hacia el 8º día.

2º) El incremento de actividad del conjunto amilásico producido, es mayor para las enzimas del grupo alfa-beta que para el grupo de las Q-R.

3º) Los glúcidos solubles y los aminoácidos producidos durante el período de la germinación bajo la acción de ambas hidrácidas, no ofrece diferencias significativas.

4º) Se observó un menor desarrollo y talla en las plántulas tratadas respecto a las testigos.

CUADRO Nº I

ACTIVIDAD AMILASICA

Semillas germinadas en la oscuridad

Glúcidos reductores: mg/g de semillas fresca.

Días	Amilasas alfa-beta			Amilasa Q-R		
	T	I	II	T	I	II
5	15	10,6	19,7	4,2	22,1	9,3
8	5,5	17	15	8	15,5	8,3
12	5,3	10	20	7	10	10
15	6,8	7,5	12,5	2,5	5,5	2,5

Promedio de tres ensayos.

CUADRO Nº II

ACTIVIDAD AMILASICA

Semillas germinadas en la luz

Glúcidos reductores: mg/g de semilla fresca.

Días	Amilasa alfa - beta			Amilasa Q - R		
	T	I	II	T	I	II
5	6,8	37,1	11,7			
8	16,8	37,1	15	51	19	48
12	13	30,4	20	6,5	11,7	9,3
15	7,6	16,2	14,6	11	8	5
19	0	16,7	18,7	0	9,6	5,1

Promedio de tres ensayos.

CUADRO Nº III

GLUCIDOS IDENTIFICADOS POR CROMATOGRAFIA

Días		Germinadas en la luz			Germinadas en la oscuridad			
		5	8	15	3	6	8	15
Glucosa	T	+	—	+	+	+	+	+
	I	+	—	+	+	+	+	+
	II	+	—	+	+	+	+	+
Fructosa	T	+	+	+	+	+	+	+
	I	+	+	—	+	+	+	+
	II	+	+	+	+	+	+	+
Sacarosa	T	+	+	+	+	+	+	+
	I	+	+	+	+	+	+	+
	II	+	+	+	+	+	+	+
Galactosa	T	+	+	—	—	—	+	—
	I	+	+	—	—	—	+	—
	II	+	+	—	—	—	+	—
Maltosa	T	—	+	—	—	—	+	—
	I	—	+	—	—	—	+	—
	II	—	+	—	—	—	+	—
Desconocido f = 0,24	T	—	—	—	—	—	+	—
	I	—	—	—	+	—	+	—
	II	—	—	—	+	—	+	—

CUADRO Nº IV

TALLAS PROMEDIOS DE LAS PLANTULAS

Tratadas:	Germinadas en la oscuridad al 8º día		Germinadas en la luz al 15º día
	Raíces	Coleoptilo	Coleoptilo
	mm.	mm.	mm.
I	12	9,5	18
II	7	8,5	11
Testigo	42	25	23

Resumen

Se estudió la acción de la N(2-4 diclorofenil) glicinhidracida y de la O(2-4 diclorofenil) acetilhidracida sobre el conjunto amilásico de las semillas de maíz en germinación, relacionando el proceso de la amilólisis con los glúcidos solubilizados y los aminoácidos producidos. Se comprobó un incremento marcado en la actividad alfa-beta para las semillas tratadas, que se manifiesta tanto en las semillas germinadas en la luz como en la oscuridad.

Los glúcidos solubles y los aminoácidos producidos simultáneamente, no señalan diferencias cualitativas. Las tallas de coleóptilos y raíces de las semillas tratadas son menores que las correspondientes no tratadas.

Summary

The action of N(2-4 dichlorophenil) glycinhydrazide and O(2-4 dichlorophenil acetylhydrazide on the germination process of corn seeds has been studied.

The amilolitic activity was related with the soluble sugars and aminoacids produced at light and dark of the treated seeds, an increase in the alpha-beta amylolitic activity on the treated seeds was noted.

Roots and coleoptils of the untreated plants were longer than the treated ones.

BIBLIOGRAFIA

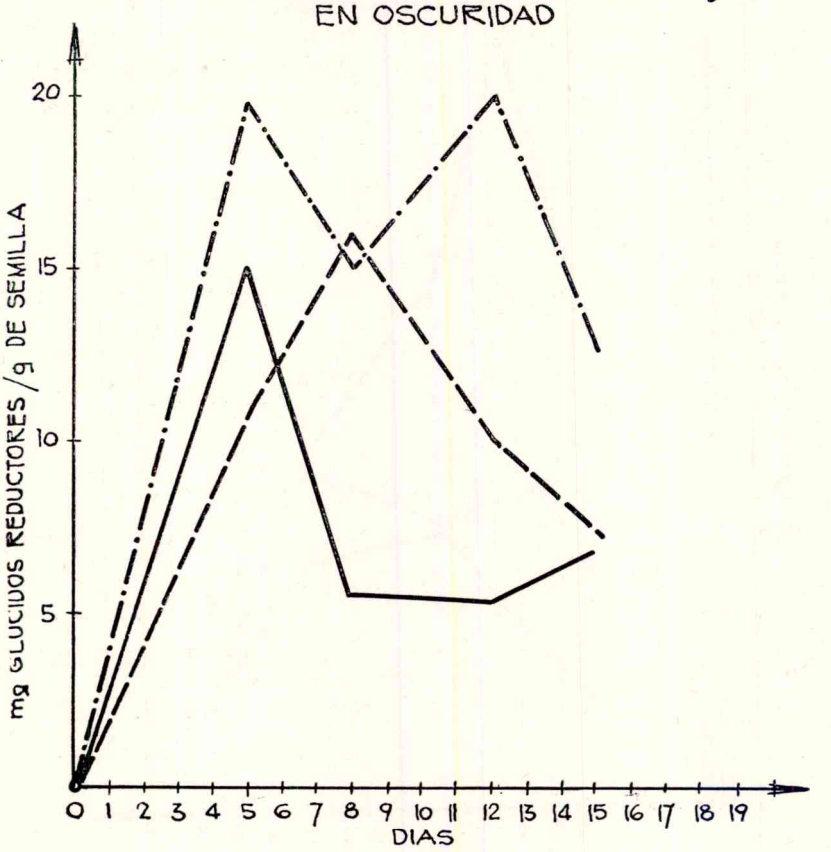
1. Bungi, M., *Nature*, **167**, 606 (1951).
2. Dure, L. S., *Plant Physiol.*, **35**, 925 (1960).
3. Hobson, P. N., *Biochem. J.*, **47**, XXXIV (1950).
4. Myers, V. C., Free, A. H., Rosniski, E., *J. Biol. Chem.*, **154**, 89 (1944).
5. Panzur, J. H., Sandsted, R. M., *Cereal Chem.*, **31**, 416 (1954).
6. Partridge, S. M., *Nature*, **158**, 270 (1946).
7. Partridge, S. M., *Biochem. J.*, **35**, 925 (1948).
8. Passeron, S., Brieux, J. A., *Bull. Soc. Chim.* France, pág. 35 (1963).
9. Porter, H. J., J., *Exper. Bot.*, **6**, 43 (1955).
10. Riverós, M. H. C. K. de; Vonesch, E. E. y Brieux, J. A., *Acción de las hidracidas de N(mono y diclorofenil)glicinas y compuestos relacionados sobre la germinación de semillas de maíz, trigo y tomate.* Comunicación presentada al Congreso Panamericano de Química, Bs. As. (1962).
11. Ibid. ibid. *Comunicación personal.*
12. Whelan, W. J., *Encyclopedia of Plant Physiology*, Vol. VI, editado por W. Ruhuland, Springer Verlag (1958).

Agradecimientos. Al Profesor Dr. Jorge A. Brieux por las hidracidas y al Ingeniero Agrónomo Hernán Felgueras por las semillas de maíz facilitadas.

GRAFICO Nº 1

ACTIVIDAD AMILASICA α-β

EN OSCURIDAD

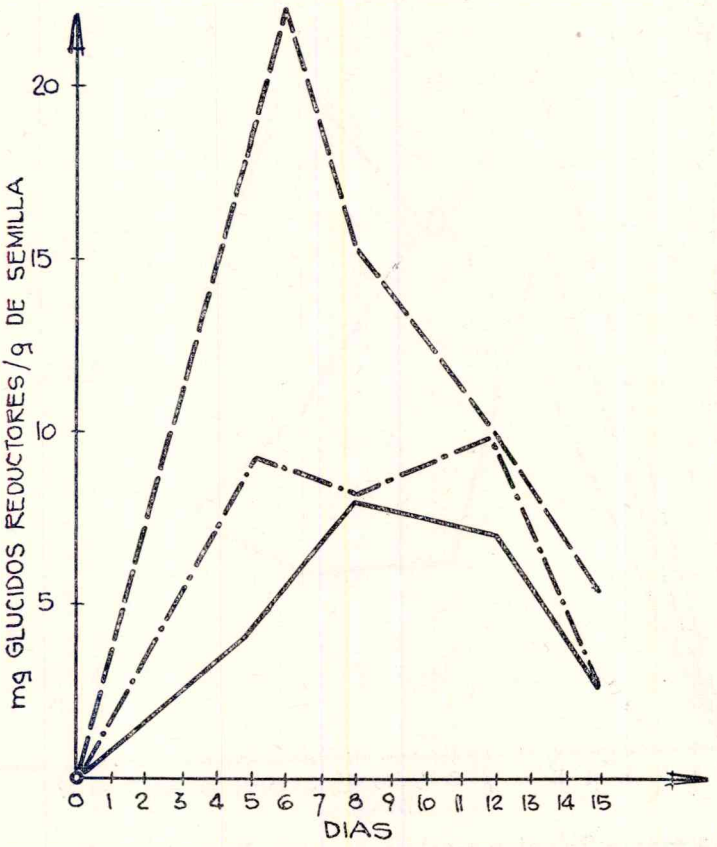


Testigo: —— Tratadas con I: — — — Tratada con II: —·—·

GRAFICO Nº 2

ACTIVIDAD AMILASICA Q-R

EN OSCURIDAD

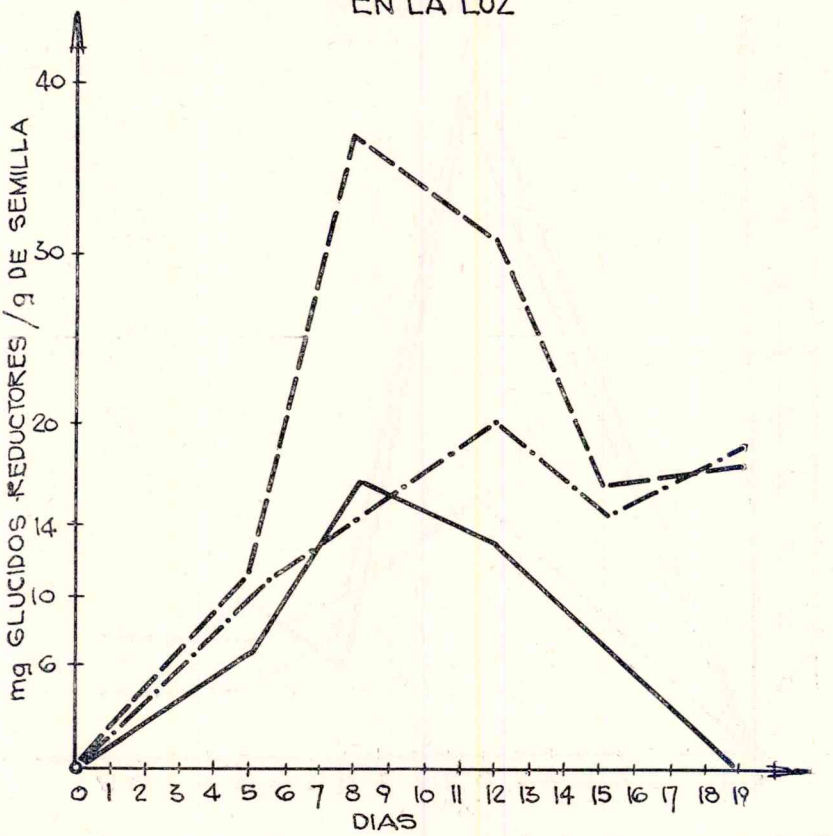


Testigo: ——— Tratadas con I: — — — Tratadas con II: —·—

GRAFICO Nº3

ACTIVIDAD AMILASICA α-β

EN LA LUZ

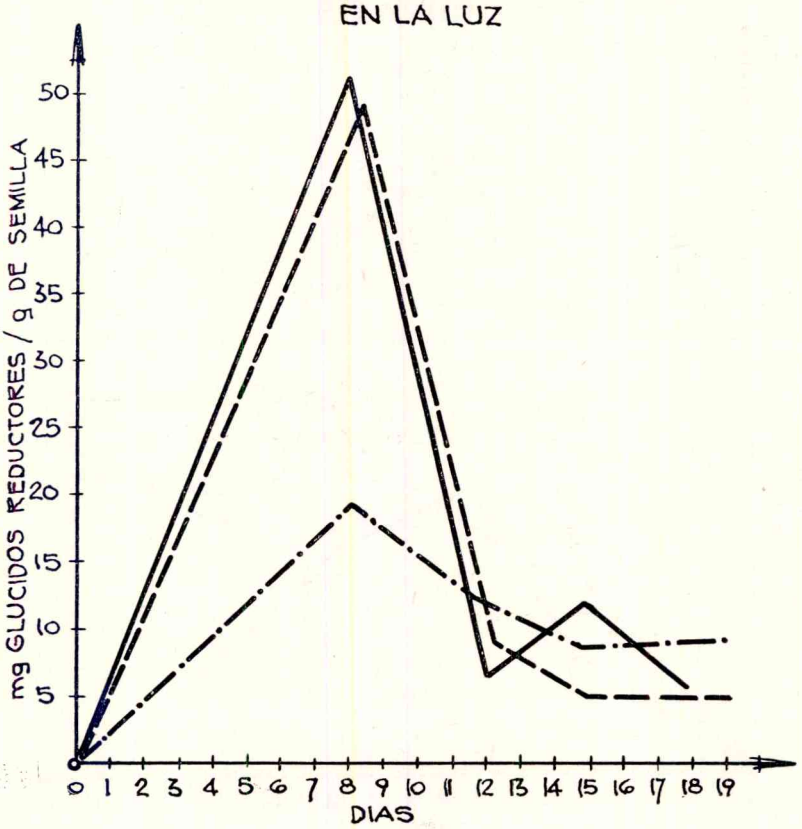


Testigo:——— Tratadas con I:— — — Tratadas con II:—·—·

GRAFICO Nº4

ACTIVIDAD AMILASICA Q-R

EN LA LUZ



Testigo:——— Tratadas con I:— — —Tratadas con II: —·—

REVISTA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA DE BUENOS AIRES
16 (Entrega II): 109-125, Dic., 1965

Técnicas utilizadas en la aplicación de un herbicida marcado con C^{14} (1)

POR

JUAN JOSÉ COSTA (*), RODOLFO ANTONIO GHELFI (**), EDGARDO OSCAR BRENZONI (***)

RESUMEN

Se emplearon técnicas aplicables al estudio de los aspectos que más corrientemente figuran en la literatura sobre trabajos con 2,4-D: aplicación del producto en la planta, autorradiografías para observar penetración y traslación y mediciones de actividad para evaluar la cantidad de radioisótopo absorbido en porcentaje de la cantidad total aplicada, teniendo como base el producto sintetizado y formulado en las condiciones de uso en nuestro país, ya que no se permite la importación de herbicidas elaborados a base de 2,4-D.

Las autorradiografías indicaron en general una limitada distribución de la actividad del producto para todas las dosis aplicadas; las mediciones de actividad evidenciaron una localización de productos marcados en la planta, 5 días después del tratamiento, cuya cantidad de radioisótopo fue aproximadamente la sexta parte de la dosis original.

(*) Ing. Agr., Profesor Asociado del Departamento de Patología Vegetal de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires y Secretario del Centro de Radiobiología de la misma institución.

(**) Ing. Agr., Jefe de la División Aplicaciones Agrícolas. Gerencia de Energía. C. N. E. A.

(***) Técnico subprofesional de la citada División y estudiante de Agronomía de la F. A. V. de Buenos Aires.

(1) Trabajo realizado en el Centro de Radiobiología de acuerdo con el convenio suscripto con la Comisión Nacional de Energía Atómica.

Summary

They were applied some techniques to study the most common subjetcs that are included on the bibliography about works using 2,4-D: application to the plants, autoradiographs to study penetration and translocation and measurements of activity to evaluate the amount of uptaken radioisotope as a percentage of the total amount applied, having like base the synthesized and formulated product under the conditions of applications in the Argentina where is forbidden the entry of 2,4-D elaborated herbicides.

The autoradiographs indicated a general limited distribution of the radioactivity for all the doses applied; the activity measurements showed also a localization of labeled compounds in the plant; the amount of the radioisotope present in those compounds, five days after the treatment, was approximately one sixth of the original dose.

Material utilizado

El herbicida marcado se adquirió en forma de ácido al Radiochemical Centre Amersham (Inglaterra) recibiéndose en solución bencénica contenido en un tubo cerrado bajo nitrógeno y reuniendo las siguientes características: 500 microcuríes en 5,1 mg del producto, con una actividad específica de 21,7 mC/mM.

Salvo los períodos en que se trabajó con el material éste fué conservado en el congelador de una heladera común (-7 a -8°C) con el fin de evitar los efectos de la radiólisis (1) que ocurren en los compuestos de alta actividad específica al existir colisiones y emisión de radiaciones.

Respondiendo al deseo de utilizar el herbicida bajo la misma forma química que se emplea en las pulverizaciones a campo, el ácido diclorofenoxiacético fué pasado a su éster butíliso en la División Moléculas Marcadas del Departamento de Química de la Dirección de Investigaciones Científicas (Jefe Dr. A. E. Mitta) C. N. E. A.

Para abrir el tubo, éste fué colocado en posición vertical y se utilizó una sierra para ampollas de vidrio; el contenido fué volcado dentro de un balón pequeño al que también se incorporaron los lavados hechos con benceno en la ampolla original; la evaporación del benceno se hizo de inmediato bajo campana, haciendo burbujear suavemente N sobre la superficie de la solución, que fué calentada a 50°C en baño de agua (2).

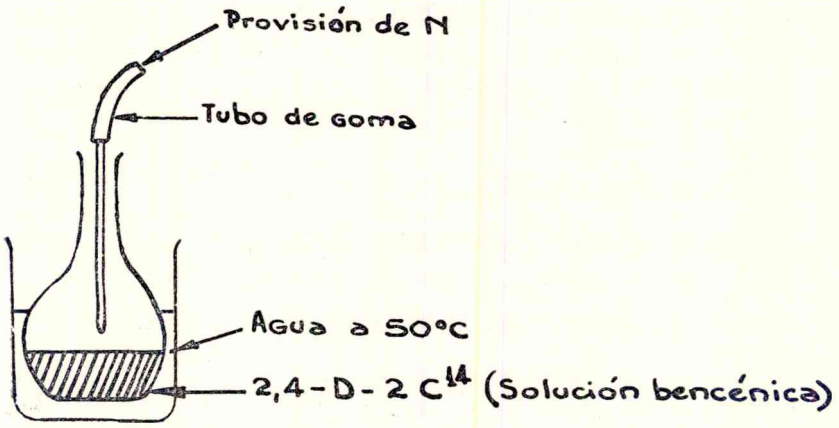


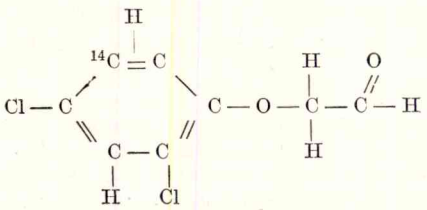
Fig. 1 — Esquema del sistema de evaporación empleado.

Seguidamente el ácido fué esterificado en la División Moléculas Marcadas, que desarrolló la técnica necesaria para ello.

El producto entregado respondió a las siguientes características: 132 mg de éster butílico de 2,4-D-2C^{14} (1) correspondientes a 115,1 mg del ácido (cantidad completada con producto no marcado o portador) en 22 ml de butanol; en realidad para esa cantidad de ácido corresponden 144 mg de éster, pero el rendimiento fué aproximadamente del 92 %, razón por la cual es probable se haya perdido también un 8 % de actividad, quedando para el total del producto obtenido 460 microcuríes de los 500 microcuríes originales.

En el laboratorio de la División Aplicaciones Agrícolas esta solución fué concentrada a baño maría, en un cristalizador de 100 cm^3, bajo campana hasta un volumen de 4 cm^3, operación que duró 6 horas. El cristalizador conteniendo la solución concentrada se cubrió con tapón de goma y se conservó en el congelador de una heladera común; esta solución se denominará en adelante *"solución original"*.

(1) Ester: $C_6H_3Cl_2OCH_2COOC_4H_9$
Acido: $C_6H_3Cl_2OCH_2COOH$



Para la marcha de la experiencia se utilizaron dos emulsiones de distinta concentración ("concentrada" y "diluída") basándose la primera en el uso de la cantidad promedio de la aplicación a campo, en la menor dilución.

EMULSION CONCENTRADA:

Formulación a campo = 1,125 l/ha de solución de éster al 40 % + 80 l de agua, utilizando máquinas terrestres.

1,125 l solución de éster al 40 % = 450 g de éster.

Fórmula de la emulsión radiactiva a partir de 0,5 cm³ de solución original.

0,5 cm³ solución original
0,2 cm³ Emulsan (emulgente) (2)
0,2 cm³ Less (solvente) (3)
1 gota de Agrimul N4R (emulgente)
2,2 cm³ agua de la canilla

Volumen aproximado de la emulsión radiactiva: 3,1 cm³.

4 cm³ sol. orig. tienen 500 microcuríes
0,5 cm³ sol. orig. tienen 62,5 microcuríes
3,1 cm³ emulsión tienen 62,5 microcuríes
10 lambdas emulsión tienen 0,202 microcuríes (4)

10 lambdas corresponden a *la menor* dosis de aplicación.

4 cm³ sol. orig. tienen 0,132 g de éster
0,5 cm³ sol. orig. tienen 0,0165 g de éster
3,1 cm³ emulsión tienen 0,0165 g de éster

10 lambdas emulsión tienen 53 microgramos de éster.

La emulsión concentrada contiene cada 10 lambdas 0,202 microcuríes de actividad y 53 microgramos de éster.

Comparación con respecto a la formulación a campo:

Aproximadamente 3,1 cm³ emulsión tienen 0,0165 g éster
Aproximadamente 80 litros emulsión tienen 426 g éster (similar a la cantidad de la formulación a campo).

2 Alquil Fenoxi polioxietanol aril alquil sulfanato.
(3) Residuo de refinería de aceites minerales.
(4) Considerando el rendimiento de la esterificación (92 %) correspondería para 10 lambdas de emulsión 0,186 μC.

EMULSION DILUIDA:

Fué obtenida duplicando la cantidad de agua y manteniendo constantes las cantidades de los demás componentes.

Volumen aproximado de la emulsión radiactiva = 5,3 cm^3.

La emulsión diluída contiene cada 10 lambdas 0,118 microcuríes de actividad (5) *y 31 microgramos de éster.*

Las cantidades utilizadas en los cálculos precedentes y posteriormente en la experiencia, podrían aparecer en lo referente a la actividad, como tomadas sin ninguna precaución pero en realidad los cálculos estuvieron supeditados a los antecedentes que al respecto brindan los trabajos de Yamaguchi y Crafts (3) y de Slife, Key, Yamaguchi y Crafts (4) que emplearon dosis tales como 1 a 50 microgramos del producto con 0.0045 a 0.225 microcuríes y 44 microgramos con 0.248 microcuríes respectivamente, aunque hay que hacer la salvedad que los citados autores utilizaron el 2,4-D en su forma de ácido.

Tratamiento de plantas

Las plantas utilizadas se mantuvieron en invernáculo, puestas en macetas a las cuales fueron trasplantadas tras su aparición en condiciones naturales a campo. Hace excepción de esta circunstancia el caso de *Datura ferox,* que fué sembrada directamente en maceta, previa eliminación del tegumento de la semilla, razón por la cual cumplió todo su desarrollo en invernáculo.

Se realizaron treinta aplicaciones de emulsiones en plantas, de esos tratamientos se seleccionan los seis casos más representativos para considerarlos en esta publicación, incluyéndose los detalles al pié de cada fotografía de las plantas y la de sus autorradiografías correspondientes.

La aplicación de las emulsiones radiactivas a las plantas, se efectuó utilizando una micropipeta de 10 lambdas para la medición de todos los volúmenes empleados. La micropipeta se usó conectada a una jeringa de 2,5 cm^3 por un trozo de tubo de goma.

(5) Considerando el rendimiento de la esterificación (92 %) corresponderían para 10 lambdas de emulsión diluída 0,109 μC

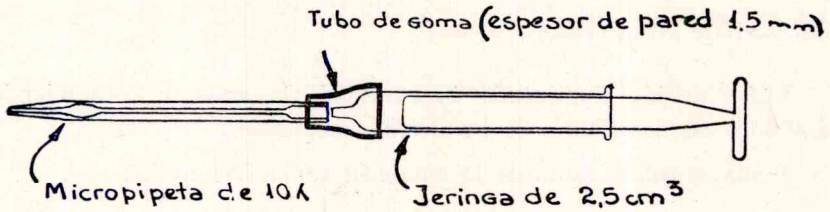


Fig. 2 Esquema de la adaptación de la jeringa a la micropipeta.

El volumen medido se depositó sobre un trozo circular de papel higiénico, de 1 cm de diámetro, adherido por su borde a la cara anterior de una hoja, con el mínimo indispensable de vaselina sólida y tomando la precaución de formar un aro uniforme y del menor ancho posible.

Transcurrido el período de tratamiento, las plantas se utilizaron para efectuar autorradiografías y, en algunos casos, mediciones de actividad.

Autorradiografías

Para la obtención de las autorradiografías se procedió de la siguiente manera: pasado el tiempo asignado al tratamiento, se cosecharon las plantas enteras, se lavaron las raíces hasta dejarlas libres de tierra, se separaron los discos de papel y las hojas tratadas fueron lavadas con etanol al 80 % con el objeto de eliminar los residuos no absorbidos del herbicida. En casos de pulverización total de la planta (efectuada con un pequeño "atomizador de uso médico") aquélla fue sumergida varias veces en una bandeja con etanol 80 % y posteriormente lavada con agua.

Las plantas se secaron al aire durante 24 horas y luego, por un período igual, en estufa a 60-70°C, colocadas en una prensa de madera entre hojas de papel secante. Este tipo de secado puede efectuarse cuando el período de tratamiento es mayor que un día y la traslación y distribución de la radiactividad no es necesario apreciarla en forma tan precisa como cuando se estudia solamente penetración (3).

Los detalles de especie, dosis, período de tratamiento, película utilizada, tiempo de exposición, revelador y fijador empleados, se incluyen al pié de las fotografías correspondientes. La película radiográfica se colocó en contacto directo con el material tratado, sin interponer polietileno; entre la película y la prensa de madera se colocó papel secante.

La formulación de los reveladores y fijadores usados es la siguiente:

Revelador "Kodak" D-19b (5)

Agua a 45°C	1.500 cm³
Elon o metol	6.6 g
Sulfito de sodio (cristal 432 g)	216.0 g
Hidroquinona	26.0 g
Carbonato de sodio (cristal 390 g)	144.0 g
Bromuro de potasio	12.0 g
Agua hasta	3.000 cm³

Fijador "Kodak" F-5 (5)

Agua a 50°C	650 cm³
Hiposulfito de sodio anh.	240 g
Sulfito de sodio anh.	15 g
Acido acético al 28 %	48 cm³
Acido bórico	7.5 g
Alumbre de potasio	15 g
Agua hasta	1.000 cm³

Revelador "Argen" R-14 (6)

Agua a 45-50°C	600 cm³
Metol	3.0 g
Sulfito de sodio anh.	50.0 g
Hidroquinona	9.0 g
Carbonato de sodio anh.	50.0 g
Bromuro de potasio	3.0 g
Agua hasta	1.000 cm³

Fijador "Argen" F-11 (6)

Agua a 45-50°C	600 cm³
Hiposulfito de sodio anh.	255 g
Si es cristalino: 400 g.	
Sulfito de sodio anh.	36 g
Acido acético glacial	14 cm³
Acido bórico cristalizado	10 g
Alumbre de potasio	20 g
Agua hasta	1.000 cm³

Seis fotografías de plantas tratadas y las de sus correspondientes autorradiografías, que representan a los casos más típicos entre los tratamientos realizados, se incluyen en las páginas siguientes.

Mediciones de actividad

Esta parte del trabajo, se desarrolla más que con el objeto de expresar una cuantificación exacta de la magnitud de distribución de la radiactividad del producto en la planta (4) (11), para señalar las dificultades con que tropezaron los autores en su intento de estudiar la posibilidad de efectuarla (6).

Tratándose de medir la actividad de un emisor beta débil (C^{14}: 0,155 Mev) fué necesario primeramente considerar la preparación de una curva de autoabsorción; ésta permite corregir la influencia del espesor (mg/cm²) de las muestras en las mediciones de actividad.

(6) En el presente trabajo se menciona frecuentemente la distribución de la radiactividad del producto y no del producto en sí, esto debido a los antecedentes bibliográficos que señalan la metabolización del herbicida hacia otros compuestos que quedan "marcados" (4) (11).

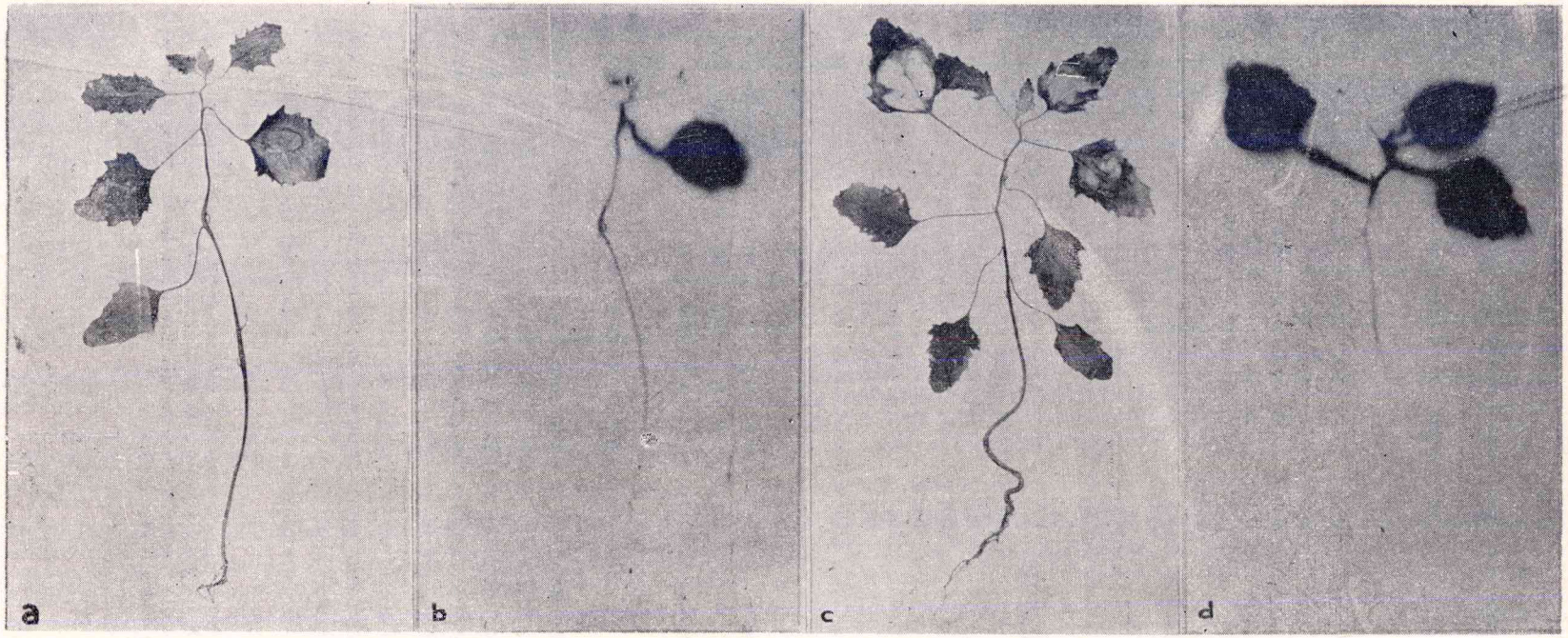


Fig. 3. *a* Planta de quinoa de 10 cm. de altura, tratada con 10 lambdas de emulsión concentrada, aplicadas en una hoja. Tratamiento: 3 días.

b Autorradiografía (*). Película: Ferrania "I" Gamma. Exposición: 25 días. Revelador: R-14. Fijador: F-11.

c Planta de quinoa de 10 cm. de altura, tratada con 100 lambdas de emulsión concentrada aplicadas en tres hojas. Tratamiento: 3 días.

d Autorradiografía. Película: Ferrania "I" Gamma. Exposición: 25 días. Revelador: R-14. Fijador: F-11.

(*) Copia de la fotografía que se obtuvo de la película procesada, se colocó debajo de vidrio y sobre papel blanco. Las zonas oscuras, al igual que en el original, indican la presencia de radiactividad.

incidencia de aproximadamente 45º (3). La autorradiografía con iluminación lateral de ambos costados y con un ángulo de

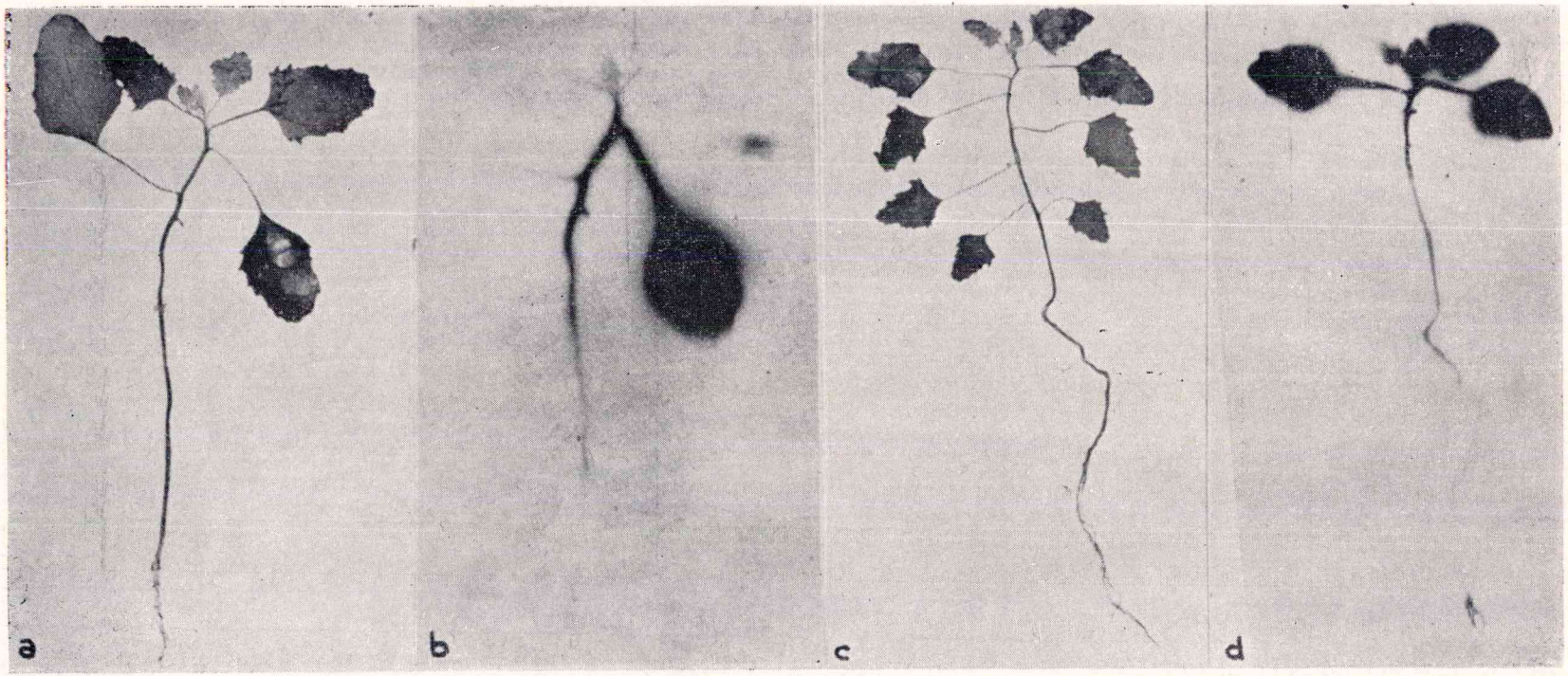


Fig. 4 *a* Planta de quinoa de 7 cm. de altura, tratada con 10 lambdas de emulsión diluída aplicadas en una hoja. Tratamiento: 3 días.

b Autorradiografía. Película: Ferrania "I" Gamma. Exposición: 28 días. Revelador: R-14. Fijador: F-11.

c Planta de quinoa de 10 cm. de altura, tratada con 100 lambdas de emulsión diluída aplicadas en tres hojas. Tratamiento: 3 días.

d Autorradiografía. Película: Ferrania "I" Gamma. Exposición: 28 días. Revelador: R-14. Fijador: F-11.

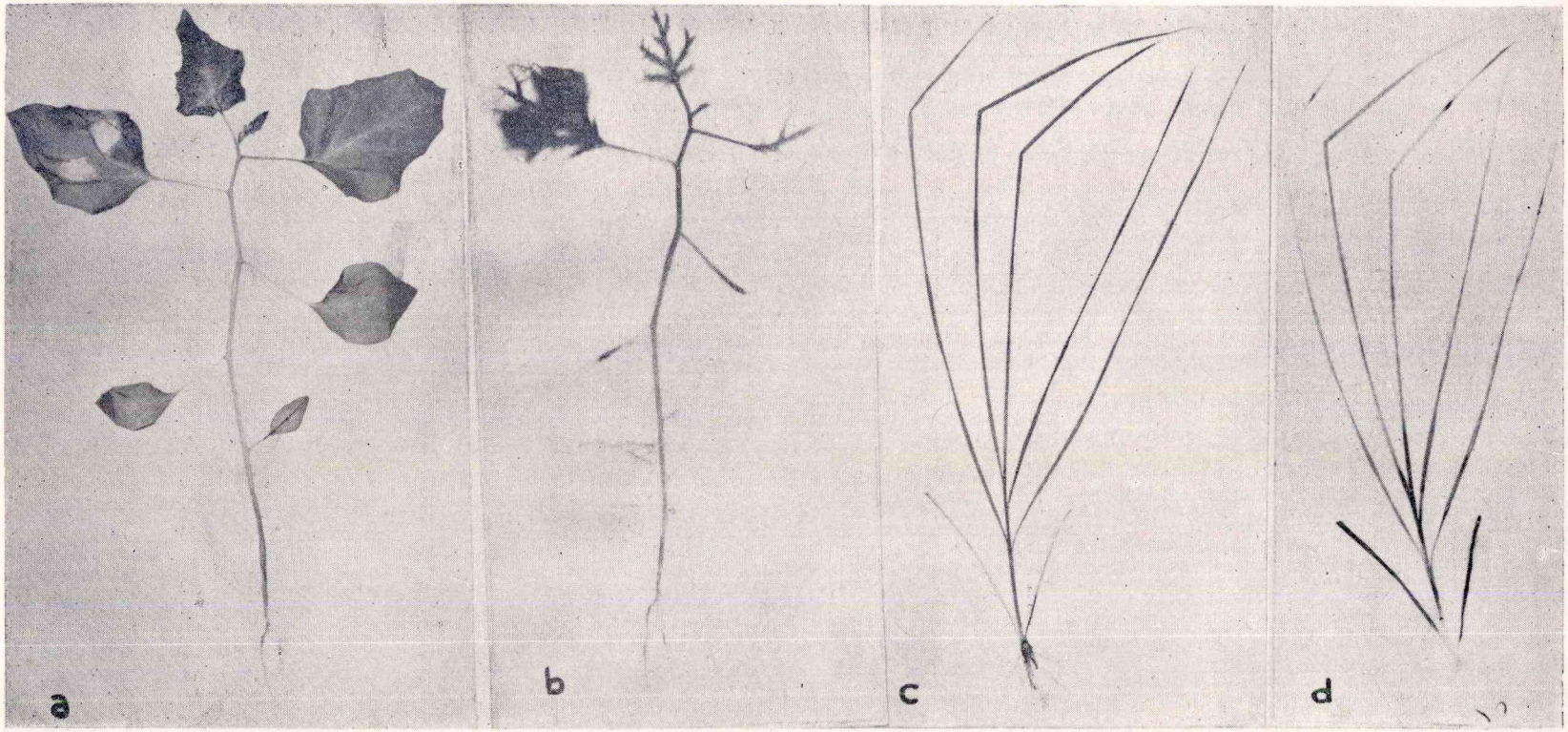


Fig. 5 *a* Planta de Datura ferox de 21 cm. de altura, tratada con 60 lambdas de emulsión concentrada, aplicadas en una hoja pero sobre dos discos de papel. Tratamiento: 3 días.

b Autorradiografía. Película: Kodak Crystallex X-Ray. Exposición: 25 días. Revelador: D-19b. Fijador: F-5.

c Planta de Cyperus de 40 cm. de altura, pulverizada toda la mata con la siguiente emulsión: 1 cm^3 emulsión concentrada + 4 cm^3 agua de la canilla. Tratamiento: 12 días.

d Autorradiografía. Película: Kodak Crystallex X-Ray. Exposición: 29 días. Revelador: D-19b. Fijador: F-5.

Curva de Autoabsorción

La autoabsorción impide la obtención de los datos reales de actividad disminuyéndolos y para lograr aquellos se precisa disponer de los factores de corrección que deben basarse en datos cuantitativos y que se obtienen mediante la realización de una curva de autoabsorción (7). En el caso del presente trabajo, ésta se efectuó de la siguiente manera: 0,5 cm^3 "solución original" se llevaron a 3,1 cm^3 con butanol, respetando la concentración de la emulsión concentrada, pero no empleando ésta por no poder lograrse una geometría satisfactoria, ya que al secar la emulsión el residuo no es uniforme (quedando varias zonas aisladas) y además, salvo condiciones muy extremas de secado, conserva restos de humedad.

De la solución, se utilizó para todos los puntos de la curva el mismo volumen (10 lambdas = 0,202 microcuríes) y empleando masas portadoras crecientes desde 0 hasta 64 mg/cm^2 ([7]).

La curva de autoabsorción se realizó en base a seis determinaciones de actividad, según Cuadro 1.

CUADRO 1

Masa y espesor de las muestras correspondientes a la curva de autoabsorción.

MUESTRA	MASA (*) mg	mg/cm^2 (**)
0 (***)	—	—
1	22 8	6
2	60.8	16
3	121.6	32
4	182.4	48
5	243.2	64

(*) La masa estuvo constituída por material molido de planta de quinoa previamente secada.

(**) El material se colocó en cazoletas de acero inoxidable de 2 cm. de diámetro interno (superficie de la base: 3.8 cm^2) y una altura de 9 mm.

(***) La muestra 0, considerada prácticamente sin masa, se obtuvo evaporando en la cazoleta de acero inoxidable 10 lambdas de la solución butílica. La micropipeta con la que se midió el volumen, fue lavada sobre la cazoleta, con 0.5 cm^3 de butanol .

(7) Considerando el rendimiento del 92 % corresponden 0,186 μC.

Las 10 lambdas de la solución butílica del herbicida, se incorporaron al material contenido en las cazoletas utilizando una micropipeta, la cual finalmente se lavó sobre aquellas con 0,5 cm^3 de butanol. La suspensión (material molido + solución activa + butanol) se homogeneizó agitando circularmente las cazoletas, a mano, secándose finalmente en estufa a 46 - 47°C durante 4½ horas.

El contaje de las cazoletas se realizó con un tubo Geiger-Müller T. G. C. - 2 (Tracerlab) con ventana de mica de 1,8 mg/cm^2 de espesor y escalímetro C. N. E. A. Antes de colocarlas bajo el tubo, las cazoletas fueron cubiertas con un fino papel de aluminio, debido al problema a que se hará referencia más adelante. Esta característica y el mismo equipo fueron utilizados en todas las mediciones de actividad que figuran en el presente trabajo.

CUADRO 2

Datos de actividad obtenidos para preparar la curva de autoabsorción.

MUESTRA	CUENTAS POR MINUTO (*)	RELACION N/No (**)
0	11.057	1
1	6.658	0.6
2	5.086	0.46
3	3.714	0.34
4	3.019	0.27
5	2.444	0.22

(*) No se efectuó corrección motivada por pérdida por coincidencia, por tratarse de un relativamente bajo número de cuentas por minuto, que sólo en el caso de masa cero excede de 10.000.

(**) N = Actividad observada con la masa correspondiente para cada cazoleta (ver cuadro 1) y No = Actividad observada para la muestra sin masa.

Las relaciones N/N_0 son elevadas con respecto a las obtenidas por J. R. Corbett y Ch. S. Miller (8) con otro material (semilla de algodonero) y también con respecto a las que se pueden esperar teóricamente: en C^{14} alrededor de 6 mg/cm^2 de muestra causan una reducción del 50 % de la actividad (7).

Los datos obtenidos en esta experiencia se vieron afectados por el secado de las muestras, que ocasionó una pérdida de actividad que resultó mayor en los casos de menor masa y por lo tanto influyó principalmente sobre la muestra sin masa. Esta circunstancia fué comprobada aplicando 1 hora suplementaria de secado (en estufa a 46-47°C) a muestras de la curva de autoabsorción que ya habían sido secadas las

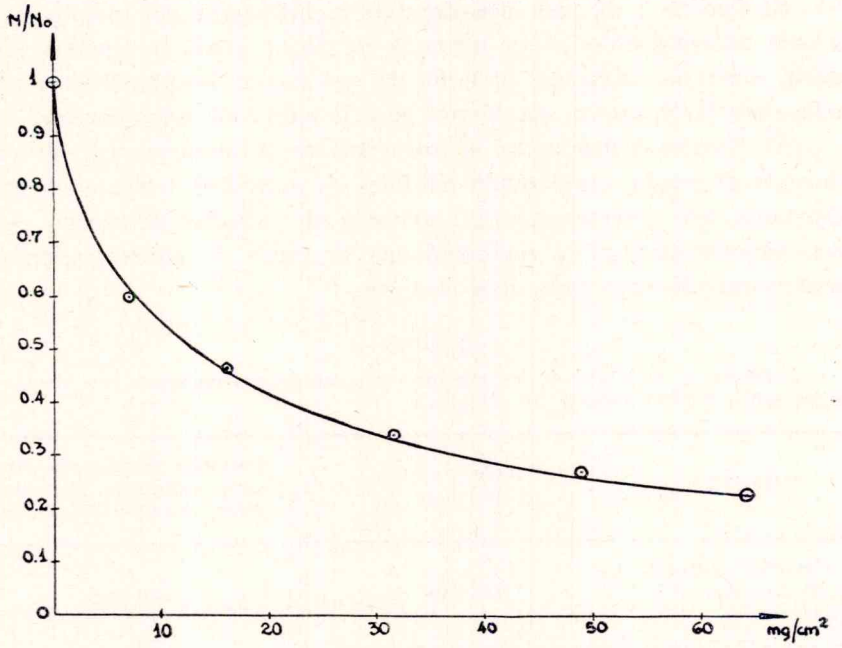


Fig. 6 Curva de autoabsorción.

4½ horas a 46-47°C que se adoptaron como norma para todas las muestras de la experiencia.

Hay que señalar, que entre la medición de actividad de las muestras tras el secado de 4½ horas y el secado suplementario de 1 hora, transcurrieron 17 horas durante las cuales las cazoletas se dejaron en el laboratorio cubiertas con vidrio. Como en estas condiciones las pérdidas de actividad que se registraron fueron muy pequeñas, la disminución de que se deja constancia en el Cuadro 3 es atribuíble prácticamente en su totalidad al nuevo período que pasaron las muestras en la estufa.

CUADRO 3

Pérdidas de actividad de las muestras por secado suplementario de una hora en estufa a 46-47º C.

Espesor muestra mg/cm²	Primer contaje cpm	Segundo contaje cpm	Disminución %
0	11.057	9.567	13.5
6	6.658	6.384	4.1
16	5.086	4.932	3.0

El Cuadro 3 dá una idea clara de la influencia del secado, aún a baja temperatura y al ser afectada en mayor grado la muestra sin masa, quedaría explicado el hecho de que hayan resultado altas las relaciones N/N_0 que se obtuvieron para la curva de autoabsorción.

El Cuadro 4 demuestra la influencia de la temperatura elevada durante el secado, ocasionando pérdidas de actividad verdaderamente drásticas, que determinaron la exclusión de métodos de secado con esa característica en la realización de la curva de autoabsorción y posteriormente para toda otra medición.

CUADRO 4

Pérdidas de actividad de las muestras por secado suplementario con lámpara infrarroja (200º C durante 30 minutos).

MUESTRA	Secada a estufa: 46-47°C (4½ h)	Posterior secado con lámpara infrarroja. Aproxim. 200°C durante 30 minutos
Emulsión concent. 20 lambdas. Sin agregados	8.926 cpm (*)	40 cpm
Emulsión concent. 20 lambdas + 0,5 ml butanol	11.942 cpm	148 cpm

(*) Nótese que la actividad de 20 lambdas de emulsión en este cuadro, es menor que la de 10 lambdas de solución del cuadro 3; la emulsión queda mal distribuída y no seca totalmente a 46-47°C.

Concretando, en las muestras en que hubo incorporación de compuesto activo y solvente se produjo pérdida de actividad durante el calentamiento, la que fué provocada por la volatilidad del éster y magnificada por la elevación de la temperatura.

De acuerdo con lo ocurrido en la presente experiencia y habiendo procedido tanto para la curva de autoabsorción como para las muestras de las plantas con un mismo tiempo y temperatura de secado, pero existiendo influencia de la masa de la muestra en la magnitud de la pérdida de actividad, hay que considerar a la curva de autoabsorción incluída como una referencia básica aproximada a la realidad, pero no totalmente exacta. Queda todavía por agregar a lo citado que al secar las muestras se apreció cierto ascenso de líquido por las paredes de la cazoleta que se manifestó finalmente en un residuo seco (visiblemente clorofila).

Curva de calibración

En estudios biológicos, generalmente resulta de suma conveniencia la valoración de la cantidad de radiactividad de las muestras, expresada en porcentaje de la cantidad incorporada originalmente en el sistema biológico. (7) Esto se puede hacer recurriendo a la construcción de una curva de calibración, en la cual se considera un rango de contaje que cubra el que se logra en las mediciones efectuadas.

Los puntos que permiten el trazado de esta curva se obtienen con preparaciones de igual masa, a las cuales se incorporan una serie de diluciones de la muestra original (en nuestro caso ésta, o sea la emulsión concentrada, está sustituída por una solución butílica de equivalente concentración del producto) teniéndose así distintos porcentajes conocidos de la misma.

Los puntos de la curva se preparan de manera que se obtenga igual geometría que en las muestras biológicas de la experiencia, siendo también iguales a las de la curva de autoabsorción que hay que utilizar como corrección, si las muestras de la curva de calibración y las de la experiencia tienen una masa apreciable como es en nuestro caso.

Para la curva de calibración la masa del material vegetal (quinoa molida) fue constante: 60,8 mg colocados en las cazoletas de acero inoxidable ya citadas, dando un espesor de 16 mg/cm^2. La serie de diluciones (tres puntos) se obtuvo de la siguiente manera:

Se preparó una solución madre con 20 lambdas de la solución butílica de concentración igual a la emulsión concentrada y se llevó a 2 cm^3 con butanol tomándose:

Para punto Nº 1 : 0,1 cm^3 (1 lambda)
Para punto Nº 2 : 0,25 cm^3 (2,5 lambdas)
Para punto Nº 3 : 0,5 cm^3 (5 lambdas)

En la preparación de las muestras estos volúmenes se agregaron a las cazoletas completados a 1 cm^3 con butanol, procediéndose luego al secado de la muestra a 46-47°C en estufa durante 4½ horas. Los resultados de medición de actividad obtenidos y la curva que de ellos deriva se incluyen en el Cuadro 5.

CUADRO 5

Datos de actividad corregidos por autoabsorción correspondientes a la curva de calibración.

Dosis (*)	cpm	cpm corregidas por autoabsorción	Cálculo de los datos de la columna anterior. (**)
1 lambda (3,3 %)	480	1043	$480 \cdot \frac{1}{0,46}$
2,5 lambdas (8,25 %)	1200	2609	$1200 \cdot \frac{1}{0,46}$
5 lambdas (16,5 %)	2582	5613	$2582 \cdot \frac{1}{0,46}$

(*) Para expresar los porcentajes se consideró una aplicación a una planta, de una dosis de 30 lambdas de emulsión concentrada.

(**) Corresponde para 16 mg/cm² de espesor de la muestra, una relación N/No de 0,46 según datos de cuadros 1 y 2. Todas las muestras se prepararon con una masa de 60,8 mg de quinoa molida, peso que se mantuvo prácticamente invariable luego de los tratamientos posteriores.

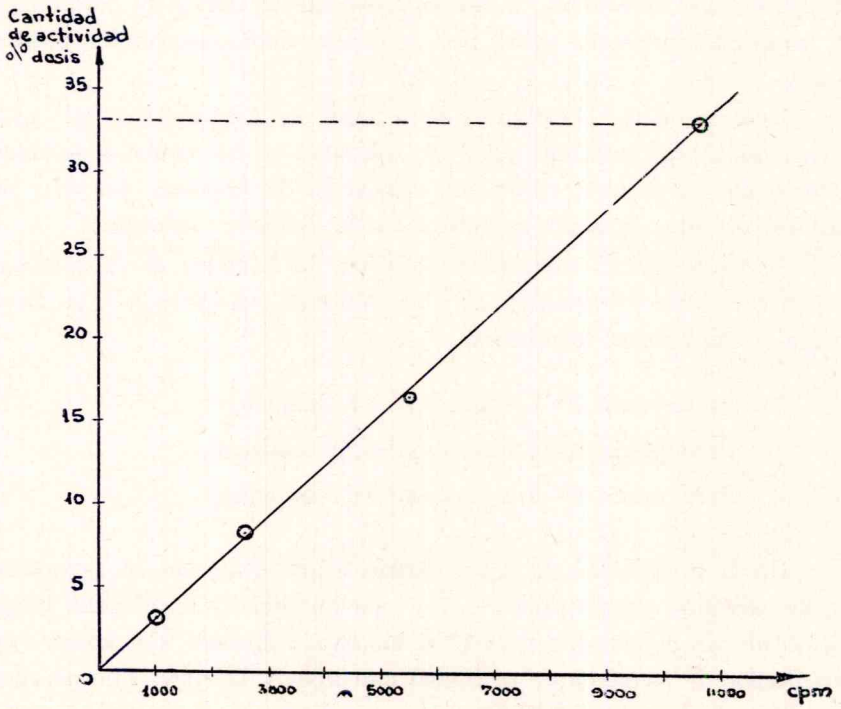


Fig. 7 Curva de calibración.

Con respecto a la exactitud en la obtención de la curva de calibración, caben citar los mismos reparos que para la curva de autoabsorción exceptuando, desde el punto de vista del valor comparativo entre sus puntos, la influencia de la masa de la muestra ya que fué igual en todos los casos. Pero por otra parte existió el problema de las distintas cantidades de actividad, por lo que podría quedar en pie la posibilidad de pérdidas en forma no proporcional.

Pero dejando de lado estas consideraciones, el gráfico de la curva de calibración está indicando prácticamente una función lineal y resulta muy aceptable para aplicar a la interpretación de datos de actividad de una prueba biológica donde otros factores pueden ser origen de errores más serios.

INTERPRETACION DE LAS MEDICIONES DE ACTIVIDAD

La limitada cantidad del herbicida marcado no permitió la realización de un crecido número de tratamientos con el objeto de efectuar

CUADRO 6

Datos de actividad registrados en la planta de quinoa. Tratamiento: 3 hojas (tercio superior, medio e inferior) tratadas con 10 lambdas de emulsión concentrada cada una.

Características de la muestra	cp 30′ (*)	c p m	cpm netas (descontando el fondo)
1) Tercio superior de la planta. 60,8 mg mat. seco molido, 710 mg. totales + 0,25 cm³ butanol; secado 46-47°C 4½ horas	2280	76	35
2) Tercio medio 60,8 mg de 1180 mg; butanol y secado ídem.	2100	70	29
3) Tercio inferior (con raíz). 60,8 mg, de 1060 mg, butanol y secado ídem.	2340	78	37
4) Tres hojas tratadas. 60,8 mg de 75 mg; butanol y secado ídem.	24810	827	786
Fondo	1230 (**)	41	—

(*) Como en todas las mediciones de actividad, se usaron como continentes de las muestras, cazoletas de acero inoxidable de las medidas citadas en cuadro 1 interponiendo papel de aluminio como se expresara anteriormente.

(**) El fondo se elevó de 20 a 41 cpm como consecuencia de mediciones anteriores efectuadas sin interposición del papel de aluminio, lo que indicaría contaminación del tubo producida por volatilización de la muestra. Esta circunstancia debe tomarse como seria advertencia para preservar el correcto funcionamiento del tubo; desde la aplicación del papel de alumnio el fondo permaneció estable.

contajes en el material vegetal; de manera que a sólo efecto ilustrativo se incluyen los datos correspondientes a un tratamiento efectuado en una planta de quinoa de 30 cm de altura, con 30 lambdas de emulsión concentrada, que se aplicaron en tres hojas (del tercio superior, medio e inferior). El tratamiento duró 5 días y puede considerarse representativo desde el punto de vista de una limitada distribución de la actividad en la planta, y el bajo número de cuentas registrado que fué característica de todas las mediciones efectuadas sobre otros tratamientos.

Tratándose de un caso en el cual el contaje del fondo y de las muestras no difieren grandemente, se hace necesario tener la certeza de que las muestras tienen realmente actividad. Esto puede determinarse hallando primeramente la desviación standard según la fórmula que corresponde para el caso en que nos hallamos:

$$S_{Rs} = \pm \sqrt{\frac{R_{(s+bg)}}{t_{(s+bg)}} + \frac{R_{bg}}{t_{bg}}} \qquad (9)$$

S_{Rs} = Desviación standard del contaje neto de la muestra por unidad de tiempo.

$R_{(s+bg)}$ = Contaje grosero de la muestra (incluído fondo) por unidad de tiempo.

$t_{(s+bg)}$ = Tiempo de contaje de la muestra más fondo.

R_{bg} = Fondo por unidad de tiempo.

t_{bg} = Tiempo de contaje del fondo.

Teniendo en cuenta la siguiente regla práctica general, puede considerarse con seguridad que las muestras Nº 1), 2) y 3) tienen realmente actividad: "Si las cuentas netas de la muestra son mayores "que dos veces la desviación standard, se puede creer, con cierta re- "serva, que un efecto ha sido observado. Si el efecto es tal que el "contaje neto de la muestra es mayor que tres veces la desviación "standard puede darse por establecido que la muestra tiene actividad, "ya que la probabilidad del efecto debido a las fluctuaciones del fondo "es de 0,3 %" (9).

CUADRO 7

Comprobación estadística de actividad en las muestras.

Muestra Nº	Comparación de cpm netas con S_{Rs}
1	35 mayor que 5,91 (3 × 1,97)
2	29 mayor que 5,76 (3 × 1,92)
3	37 mayor que 5,97 (3 × 1,99)

CUADRO 8

Cálculo de los porcentajes de C^{14} en 2, 4-D-2C^{14} y en compuestos desconocidos, localizados en la planta, en función de la curva de calibración y de autoabsorción obtenidas.

Parte de la planta	cpm en 60,8 mg (16 mg/cm²) de mat. seco	cpm corregidas por autoabsorción (*)	cpm referidas a peso total	% de la dosis (**)	concentración de la actividad (***)
Tercio superior	35	76	888	2,5	1,19
Tercio medio	29	63	1233	3,6	
Tercio inferior	37	80	1395	4,0	
Hojas tratadas	786	1709	2108	6,2	28,11
Total localizado en la planta				16,3	

(*) Relación $N/N_o = 0{,}46$, dato cuadro 2.
(**) Datos obtenidos de la curva de calibración (FIG. 7).
(***) Expresada en cpm/mg material seco.

El 83,7 % restante de la dosis aplicada está representado por lo que ha quedado absorbido en los papeles, lo que no fué absorbido por las hojas (se eliminó por lavado con etanol 80 %), metabolizado a $C^{14}O_2$ (4) y toda pérdida que eventualmente pudo haberse producido.

Se tiene la comprobación de que en los papeles quedó producto activo absorbido en forma apreciable pués se determinó un total de 1668 cpm (suma de las determinaciones de los tres papeles, cada papel se colocó directamente en el fondo de una cazoleta) que no son comparables para determinar porcentaje de la dosis, por tratarse de diferente geometría que las muestras.

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Las autorradiografías muestran en general y sin distingos entre las dosis, distribución de la actividad limitada a los tejidos de conducción y es muy poca o inexistente en las raíces. La movilidad es asimismo bastante reducida adentro de la hoja tratada, pués cuando ésta fué de cierto tamaño contrasta visiblemente el tono oscuro de los círculos de aplicación con el de las zonas algo alejadas (autorradiografía b, Fig. 5).

En la distribución de la actividad hay influencia de la especie tratada ya que en la planta de Datura ferox (autorradiografía b, Fig. 5), pese a que también es limitada, es mayor que en las plantas de quinoa.

Todas las dosis empleadas, 10-100 lambdas de emulsión concentrada o diluída, han sido eficaces para promover la obtención de autorradiografías pero son discutibles desde el punto de vista de las mediciones de actividad y prácticamente inocuas para la observación de efectos en las plantas, ya que sólo con las dosis mayores pudieron observarse encorvamientos del tallo en las zonas próximas a las de aplicación del producto. Desde luego, no hubo casos de muerte de plantas salvo al pulverizar totalmente en Cyperus spp. (autorradiografía b, Fig. 5) donde la parte aérea se secó totalmente.

La preparación de las muestras para mediciones de actividad y los contajes en sí ofrecieron dificultades, observándose deficiencias que ya han sido señaladas, pero aún así, la aproximación que se ha realizado en la determinación del porcentaje total de la dosis localizado en la planta, concuerda aceptablemente con algunos antecedentes bibliográficos, aunque éstos no se refieren a mediciones directas del material vegetal. (10).

Se habla de aproximación y con reservas porqué hubo inconvenientes en la obtención de las curvas de autoabsorción y calibración. Sin embargo hay un punto, el que corresponde al nivel de 10 lambdas en ambas curvas, para el cual la diferencia es prácticamente inexistente (3 %).

Son favorables dos confirmaciones entre lo que muestran las autorradiografías y lo que indican los contajes obtenidos: distribución de una reducida cantidad de radioisótopo, representada por bajo número de cuentas y la concentración de la actividad en la hoja tratada con respecto al resto de la planta, que explica porqué la zona de la aplicación es muy nítida en las autorradiografías.

Conclusiones

1 — Aún las dosis mínimas utilizadas (0,118 microcuríes de actividad y 31 microgramos de éster para la emulsión diluída y 0,202 microcuríes y 53 microgramos para la emulsión concentrada (8) resultaron apropiadas para la obtención de autorradiografías.

(8) Considerando un rendimiento de 92% en la esterificación las dosis mínimas que se utilizaron corresponderían a 0,109 microcuríes y 0,186 microcuríes.

2 — La técnica de aplicación de las emulsiones sobre papel higiénico no es conveniente, pues hay una sensible absorción por el mismo.

3 — Las emulsiones continúan manteniendo su eficacia como trazadoras tiempo después de preparadas (con seguridad 10 días).

4 — La cantidad de radioisótopo que se distribuyó en la planta luego de la aplicación con micropipeta fué siempre pequeña aunque dentro de estos rangos varió con la especie.

5 — El caso de pulverización total sobre planta de Cyperus spp (la autorradiografía dá una imagen de toda la planta) indica que en ese caso la penetración ocurrió en todo lugar donde llegó el herbicida. La muerte que sobrevino de la parte aérea de la planta, podría ser atribuída a una total afectación de aquélla, lo que no ocurre en casos de tratamientos locales.

6 — Para las mediciones de actividad, la comodidad y precisión en el trabajo quedan supeditadas a un aumento conveniente de la actividad específica del producto y/o a la utilización de equipos más apropiados para la medición de C^{14}.

7 — En la curva de calibración, curva de autoabsorción y en las muestras de plantas, el método de secado previo al contaje utilizando lámpara infrarroja, resultó muy inapropiado. La técnica más conveniente entre las ensayadas fué la de secado en estufa a 46-47°C durante 4½ horas y se considera así no por resultar inobjetable sino por ser la que, secando el material, produjo la menor reducción de actividad.

8 — Utilizando tubo Geiger Müller para las mediciones debe tenerse en cuenta la posibilidad de contaminación del tubo si se han empleado solventes y tomar alguna precaución para preservarlo (en nuestro caso se cubrió la cazoleta con un delgado papel de aluminio).

9 — La determinación del porcentaje de la dosis (cantidad de radiactividad) localizado en la planta da cifras bajas (16,3 %) en relación a la dosis total aplicada.

BIBLIOGRAFIA

1 FRIEDLANDER, G. - KENNEDY, J. W.: *"Nuclear and radiochemistry"*. Pág. 215-216. John Wiley and Sons, Inc. 1955.

2 DATA SHEET (DS-3778). *The Radiochemical Centre Amersham,* Buckinghamshire (England).

3 YAMAGUCHI, S. - CRAFTS, A. S.: *"Autoradiographic methods for studying absorption and translocation of herbicides using C^{14}-labeled compounds"*. Hilgardia, 28 (6): 161-191. December 1958.

4 SLIFE, F. W. - KEY, J. L. - YAMAGUCHI, S. - CRAFTS, A. S.: *"Penetration, translocation and metabolism of 2,4-D and 2, 4, 5-T in wild and cultivated cucumber plants* WEEDS, 10 (1): 29-35. January 1962.

5 Kodak Data Book of Applied Photography FY-2:3. FY-4:2.

6 Catálogo General Ferrania Argentina Nº 16.

7 COMAR, C. L.: *Radioisotopes in biology and agriculture. Principles and practice''*. Mc Grair Hill Brolees, 481 págs. 1955.

8 CORBETT, J. R. - MILLER, C. S.: *''Determination of carbon-14 in plant material by wafer counting''*. NATURE, 199 (4898): 1106-1107. Sep. 14, 1963.

9 First International Training Course on Radioisotope Techniques in Agricultural Research. Apuntes mimeografiados, Laboratory Period 2-Counting Statistics: Page 4. F. A. O./I. A. E. A./Cornell University-July 20-Sept. 10, 1959.

10 LINSCOTT, D. L. - MCCARTY, M. K.: *''Absorption, translocation and degradation of 2-4-D in ironweed (Vernonia baldwinii)''*. WEEDS, 10 (1): 65-68. January 1962.

REVISTA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA DE BUENOS AIRES
16 (Entrega II) 131-141 Dic., 1965

632.488.43:633.63

Viruela de la remolacha azucarera

Parte II - (*)

Tipos de colonias de Cercospora beticola aislados en el país (**)

POR

CLOTILDE JAUCH (***)

Introducción

Contrariamente a lo que los autores afirman, siempre se tuvo dificultad en aislar *Cercospora beticola* Sacc. en cultivo puro, utilizando los métodos corrientes de aislamiento, dado que en las colonias aparecen infecciones bacterianas. La purificación de las cepas de *Cercospora*, recurriendo a sucesivas acidificaciones del medio de cultivo, da resultado negativo en la mayoría de los casos, por cuanto aunque la cepa parece pura, lo es sólo aparentemente. Al haber permanecido entre algunas hifas unas pocas bacterias, éstas se multiplican con rapidez, en cuanto se deja de acidificar el medio.

Los dos métodos descriptos en este trabajo proporcionaron siempre excelente resultado. El citado en segundo término es el que se usó en la casi totalidad de los casos.

(*) Parte I: ver esta Revista 15 (Entrega 33): 80-86, Dic. 1963.

(**) Trabajo realizado con fondos de la Comisión Administradora del Fondo de Promoción de la Tecnología Agropecuaria Convenio Nº 108, entre Facultad de Agronomía y Veterinaria, Cátedra de Fitopatología y el I.N.T.A. Publicación Nº 3.

(***) Ing. Agr. Profesora titular del Departamento de Patología Vegetal, orientación Fitopatología.

(****) Canova, A. *Ricerche su la biologia e l'epidemiologia della Cercospora beticola* Sacc. *Parte I.* Ann. Sper. Agr. 13 (1): 37 - 82 pág. 64, 1959.

Métodos de trabajo

1er. método

Es el método indicado por Canova (****) que se transcribe a continuación: "De las hojas de plantas enfermas de viruela se limpian prolijamente los conidios existentes sobre la superficie de las manchas y luego se colocan en cámara húmeda para forzar la producción de conidios. Estos últimos, mediante una lanceta son recogidos y dispersados en algunas gotas de agua destilada y estéril, que con anterioridad se habían ubicado sobre la superficie de agar al 5 % en cajas de Petri; sucesivamente, con movimientos oportunos se actúa de manera que el agua con los conidios quede distribuída en una delgada capa sobre la superficie del agar. Las cajas se colocan a incubar en una estufa a 25°C. Una vez empezada la germinación de los conidios se procede a la separación individual de éstos (bajo el microscopio con aumento de 45 diámetros iluminando la superficie del agar por transparencia) mediante el transplante de los discos de agar sobre el que se hallan los conidios. Estos son trasplantados a otras cajas de Petri preparadas con agar papa glucosado".

También se obtuvieron excelentes resultados, agregando neomicina al agar, según lo aconsejado por Schmitthenner e Hilty (1) para aislar *Cercospora beticola* y otros hongos.

2º método

Los aislamientos monospóricos se realizaron con un micromanipulador de tipo casero, cuyo modelo y construcción se deben a la señorita Carmen M. Miche (2), a quien dejamos constancia de nuestro agradecimiento por haber construído para uso de la cátedra uno de estos aparatos y habernos permitido darlo a publicidad. Hemos creído oportuno describirlo y explicar su manipuleo, debido a que presta gran utilidad y su uso es sencillo. En esta Cátedra de Fitopatología permitió solucionar perfectamente la tarea de los aislamientos monospóricos, hasta que pudo adquirirse un micromanipulador Leitz equipado con microscopio Laborlux II.

(1) Schmitthenner, A. F. and J. W. Hilty. A modified dilution technique for obtaining single spore isolates of fungi from contaminated material. Phytop. 52: 582-583. 1962.

(2) La señorita Carmen M. Miche ideó este modelo de micromanipulador, mientras desempeñaba la tarea de ayudante de la doctora Elisa Hirschhorn en el Instituto de Fitotecnia de Castelar (I.N.T.A.).

Acondicionamiento del micromanipulador

Hay que disponer de dos microscopios, que se indican en las ilustraciones con las letras X y XX, siendo X un microscopio en desuso y XX un microscopio provisto de platina Charriot.

Al microscopio X se le aplica en su platina una varilla de vidrio. Dicha varilla está sujeta a un soporte, que se coloca sobre la platina del microscopio o micromanipulador (fig. 1). El soporte está constituído por una planchuela de acero doblada en U como puede obser-

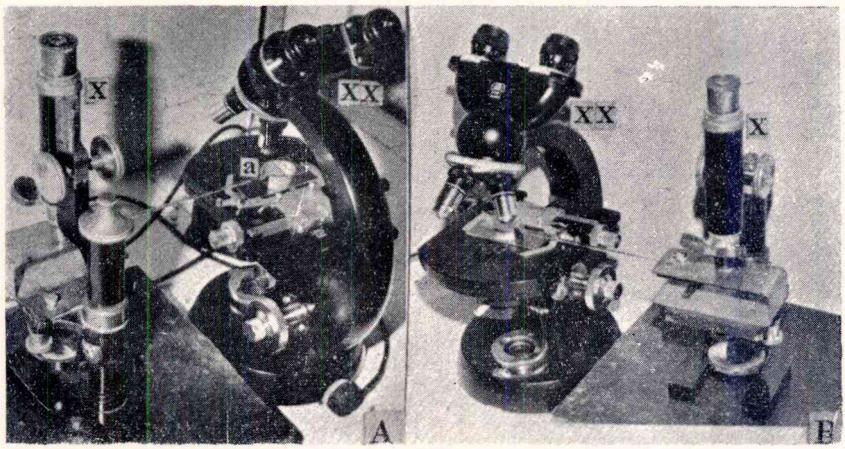


Fig. 1 — Vista de conjunto del micromanipulador: A. en posición de trabajo B. visto de frente. X micromanipulador; XX microscopio provisto de platina Charriot; a. camarita de hojalata con abertura al costado, que sustenta un cubre objeto de 30 x 30 mm.

varse en la figura 2 A; mide aproximadamente 10 cm. de largo, 4 cm. de ancho, dejando un espacio de 3,5 cm. La varilla b puede fijarse mediante el tornillo c; mide 16 cm. de largo y 2 mm. de diámetro, terminando en una finísima aguja doblada hacia arriba.

Los tornillos macro y micrométrico del microscopio X (fig. 1) proporcionan los movimientos en sentido vertical. La platina del microscopio XX permite los movimientos en sentido horizontal.

Se prepara un portaobjeto, en el que se coloca un trozo de hojalata en forma circular con una abertura al costado (fig. 3), y sobre éste un cubreobjeto de 30 x 30 mm., que lleva 4 trozos cuadrados (b) de agar papa, de aproximadamente 4 x 4 mm. de lado y 1,5 mm. de espesor (fig. 4) y un trozo rectangular (a) de agar papa de 5 x 16 mm. En un costado de la pequeña cámara formada es conveniente colocar un trozo de algodón empapado en agua, para evitar que se seque el ma-

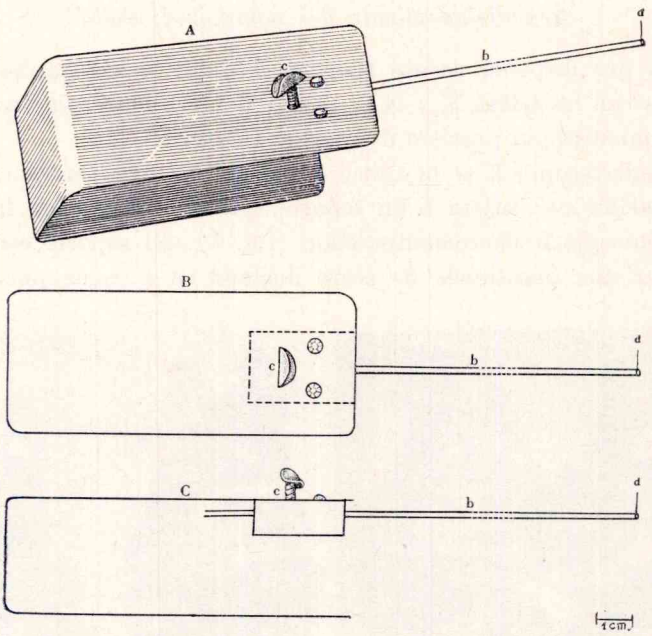


Fig. 2 — Soporte constituido por una planchuela de acero doblada en U. A. el soporte en perspectiva; B. parte superior del soporte; C. corte transversal del soporte.

Fig. 3 Fig. 4 Fig. 5

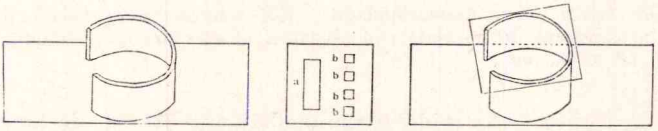


Fig. 3 — Camarita de hojalata de forma circular con una abertura al costado.
Fig. 4 — Cubre objeto de 30 x 30 mm. que lleva cuatro trozos cuadrados (b) de agar papa y un trozo rectangular (a) de agar papa.
Fig. 5 — Camarita lista para ser usada: el cubre objeto lleva en su cara inferior los trozos de agar papa, que ilustra la figura 4.

terial. El portaobjeto así armado se ubica en la platina Charriot del microscopio XX (fig. 1).

Modus operandi: Se enfrenta la aguja ubicada sobre la platina del microscopio X (fig. 3) con la entrada de la cámara (fig. 1 a y fig. 5) y se desplaza el micromanipulador X y el microscopio XX hasta que la punta coincida con el foco del microscopio.

Se aparta el portaobjeto y se procede a enfocar la aguja en el centro del campo, moviendo el micrométrico del micromanipulador. Una vez obtenido esto se dejan fijos el micromanipulador y el microscopio. La aguja quedará permanentemente sobre el centro del campo, desplazándose sólo de arriba hacia abajo y viceversa.

Se baja la aguja con el micrométrico del micromanipulador X y se desplaza la platina Charriot hasta enfocar los esporos (fig. 2 a).

Ubicado uno de ellos se sube la aguja, se hace adherir un esporo a su punta, se la baja nuevamente, se desplaza la platina hasta enfocar un trocito de agar papa (fig. 4 b) sobre el que se deja el esporo.

Finalmente se toma cada trocito y se coloca en un tubo con agar papa glucosado en pico de flauta y se lleva a la estufa a 25º C.

Es obvio hacer notar que todo el manipuleo debe hacerse en condiciones de absoluta asepsia.

Material

Las exsiccatas de *Cercospora beticola* de las que se realizaron aislamientos monospóricos están guardadas en la Cátedra de Fitopatología, bajo los siguientes números:

nº exsiccata	Remolacha azucarera variedad
469	Zwanessee
470	Poly Kühn
471	Cercopoly
472	Nemme
473	Klein Wanzleben E.
474	Kühn C. R.
475	Kühn C. R.
476	Kühn Poly
477-486-491	Nemos
478	Hilleshög
479	Klein Wanzleben E.
480	Kühn P
481	Kühn P
482-494	Polyrave
483	Hilleshög R. Poliploide
484	Hilleshög Standard Poliploide
485-493	Trirave
487	Kühn R.
488	Pedigree Van der Have
489	Zwanessee 111
490-495	Hilleshög R.
492	Zwaan Poly

C. Descripción de los síntomas macroscópicos

La descripción que suele encontrarse de las manchas debidas a *Cercospora beticola* es la siguiente: Las manchas son al principio dis-

persas y angulosas, luego más o menos redondeadas, de margen pardo, rojo púrpura o rojo violáceo (1), deprimidas en su centro en el que más tarde aparecen diminutos puntos negros constituidos por los cuerpos estromáticos (subículo), que originarán los conidióforos y los esporos. Se vuelven confluentes en los ataques graves.

El centro de las manchas varía del pardo al gris ceniciento, color que depende de la humedad ambiente. El diámetro de las mismas es de 1 a 2 mm., pudiendo alcanzar hasta 4 mm.

Además la viruela puede manifestarse presentando manchas de notables dimensiones, que luego se transforman en largas y amplias zonas secas, casi siempre carentes de la reacción antociánica.

En un período de baja humedad relativa las manchas del primer tipo son de color pardo, variable desde un tinte amarillento a un pardo ceniza, ya que soportan sólo conidióforos estériles. Por el contrario bajo la acción de la humedad se vuelven rápidamente gris plata, aterciopeladas y acto seguido emiten numerosos conidios hialinos (2).

Una observación detenida y prolija de los síntomas permitió comprobar que existían ciertas variantes como ser tamaño de la lesión, color del halo y del centro de la mancha. Se procedió entonces a estudiar si a estas variaciones de las características macroscópicas de las manchas, respondían diferencias culturales. Al comprobarse que no era así, se procuró determinar si estas diferencias eran consecuencia de una reacción varietal de la planta de remolacha azucarera frente al ataque de *Cercospora*. Es ésta la conclusión a la que se llegó, o sea, que las variedades de remolacha azucarera reaccionan en forma diferente al ataque de este hongo.

Variaciones morfológicas de cepas monospóricas de Cercospora beticola

Al realizar los aislamientos monospóricos (3) en agar papa glucosado al 2 %, pH = 7, se obtiene una gama variada de colonias de *Cercospora* (4) (5), lo cual hay que tener presente cuando se

(1) Chupp, Ch. *A monograph of the fungus genus Cercospora.* Ithaca, N. York, 1953.

(2) Viennot Bourgin. *Les champignons parasites des plantes cultivées.* Tomo II: 1516-1527 1949.

(3) Los aislamientos monospóricos han sido realizados en su mayoría por el técnico Francisco Pesoa.

(4) Frandsen, N. O. *Untersuchungen über Cercospora beticola.* I. *Verhalten des Pilzes in Künstlicher Kultur.* Zucker 8: 451 - 456. 1955.

(5) Canova, A. Ver cuadro X del trabajo de este autor, *op. cit.*

empieza a trabajar con esta especie fungícola, para evitar su eliminación creyéndolas infecciones.

En el cuadro nº 1, se han reunido las características morfológicas de 93 cepas monospóricas, considerándose el desarrollo del micelio aéreo, el color del mismo, la pigmentación del substrato y la profundidad de la pigmentación en el medio de cultivo. Se utilizó para la designación del color, el tratado de Ridgway "Color Standard and color nomenclature". - Washington D.C. 1962.

No se asentó la producción de conidios en columna separada por cuanto éstos aparecieron sólo en cinco cepas de las 93 aisladas, dato que se especificó en cada caso al pie de página.

Resumen

Se describen minuciosamente los dos métodos usados para aislar *Cercospora beticola* Sacc., por considerarlo de utilidad, dado lo engorroso que resulta aislar dicho hongo en cultivo puro.

Se especifican las variaciones morfológicas de 93 cepas monospóricas de *Cercospora beticola* aisladas de diferentes localidades del país, tomándose en cuenta el desarrollo del micelio aéreo, el color del mismo, la pigmentación del substrato, la profundidad de la pigmentación en el medio de cultivo y la producción de conidios en los limitados casos que ésta se manifestó.

Por su practicidad se describe un micromanipulador de tipo casero inédito, ideado por la técnica señorita Miche.

Summary

Two method used to isolate *Cercospora beticola Sacc.* are described. It is related minutely a micromanipulator of the home-made type not published up to now. In a table are joined morphologic variations of 93 monosporic cultures of *Cercospora beticola* proceeding from different localities of Argentina. Culture characteristics are grown of mycelium, color, substratum pigmentation, depth of pigmentation in the culture medium and the production of conidia, in the few opportunities that ones have appeared.

CUADRO nº 1

VARIACIONES MORFOLOGICAS DE CEPAS MONOSPORICAS DE CERCOSPORA BETICOLA Sacc. en AGAR PAPA GLUCOSADO AL 2 %, pH = 7

Nº de cepas	*Procedencia*	*Desarrollo del micelio aéreo*	*Color del micelio aéreo*	*Pigmentación del substrato* (x)	*Profundidad de la pigmentación en el medio de cultivo*
131	(1)	abundante	rosado	Raw Sienna III 17 i	2 mm.
132	(1)	no sobrelevado	rosado	Olive - Buff XL 21 ''' d	2 mm.
133	(1)	tipo fieltro	blanco	Tea Green XLVII 25 ''' b	2 mm.
134	(1)	escaso	blanco en parte amarillento	Olive Buff XL 21 ''' d	3 mm.
135	(1)	escaso	rosado	Olivaceous Black XLVI 21 '''' m	2 mm.
136	(1)	abundante	rosado	Grayish Olive XLVI 21 '''' —	1 mm.
137	(1)	escaso	grisáceo	Pale Olive - Buff XL 21 ''' f	2 mm.
138	(1)	abundante	rosado	Yellowish Glaucous XLI 25 ''' f	—
139	(1)	abundante lanudo	rosado	Dark Ivy Green XLVI 25 '''' k	2 mm.
140	(1)	abundante	grisáceo	Dark Olive - Gray LI 23 ''''' i	—
141	(2)	tipo fieltro	rosado	Dusky Olive - Green XLI 25 ''' m	2 mm.
142	(2)	escaso tipo fieltro *	rosado	Pale Vinaceous - Lilac XLIV 69 '''	—
143	(2)	abundante	rosado	Tea Green XLVII 25 '''' b	2 mm.
144	(2)	escaso tipo fieltro *	grisáceo	Deep Grayish Olive XLVI 21 ''' i	2 mm.
145	(2)	abundante	rosado	Vetiver Green XLVII 25 '''' —	2 mm.
146	(2)	abundante	rosado	Deep Olive - Buff XL 21 ''' k	1 mm.
147	(2)	abundante lanudo	rosado	Pois Green XLI 29 ''' i	—
148	(2)	abundante	rosado	Olive XXX 21 '' m	1 mm.
149	(2)	abundante	rosado	Tawny-Olive XXXIX 17 '' i	2 mm.
150	(2)	abundante lanudo	rosado	Yellowish Olive XXX 23 '' k	2 mm.
151	(2)	abundante	rosado	Brownish Olive XXX 19 '' m	3 mm.
152	(2)	tipo fieltro	rosado	Citrine-Drab XL 19 ''' i	2 mm.
153	(2)	escaso *	grisáceo	Deep Grayish Olive XLVI 21 '''' i	1 mm.
154	(2)	abundante	rosado	Citrine-Drab XL 19 ''' i	2 mm.
155	(3)	no muy abundante	grisáceo	Olivaceous Black (2) XLVII 25 '''' m.	3 mm.
156	(3)	no muy abundante	grisáceo	Dark Yvy Green XLVI 25 '''' k.	3 mm.

(*) Del ''Ridgway'' Color standards and color nomenclature - Washington. D. C. 1912.

Los aislamientos se realizaron con material de remolacha azucarera procedente de:

(1) Estación Experimental de Balcarce (I.N.T.A.) var. Kühn R.

(2) Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires, variedad K.W.E.

(3) Chacra Experimental de Pereira Iraola (Secr. As. Agr. de la Prov.) - variedad Cercopoly.

(*) Producción de conidios.

Nº de cepas	*Procedencia*	*Desarrollo del micelio aéreo*	*Color del micelio aéreo*	*Pigmentación del substrato*	*Profundidad de la pigmentación en el medio de cultivo*
157	(3)	no muy abundante	grisáceo	Deep Grayish Olive XLVI 21 '''' I	1 mm.
158	(3)	abundante	blanco	Dark Grayish Olive XLVI '''' k.	2 mm.
159	(3)	no muy abundante	grisáceo	Deep Grayish Olive XLVI 21 '''' i.	2 mm.
160	(3)	abundante	blanco	Dark Ivy Green XLVI 25 '''' k.	2 mm.
161	(3)	no muy abundante	grisáceo	Deep Grayish Olive XLVI 21 '''' i.	2 mm.
162	(3)	no muy abundante	grisáceo	Dark Ivy Green XLVI 25 '''' k.	2 mm.
163	(3)	no muy abundante	grisáceo	Olivaceeus Black (2) XLVII 25 '''' m	2 mm.
164	(3)	no muy abundante	grisáceo	Dark Ivy Green XLVI 25 '''' k.	2 mm.
165	(4)	escaso	grisáceo	Deep Grayish Olive XLVI 21 '''' i	4 mm.
166	(4)	escaso	grisáceo	Deep Grayish Olive XLVI 21 '''' i	4 mm.
167	(4)	abundante	gris óscuro	Yew Green XXXI 27 '' m	4 mm.
168	(4)	escaso	gris oscuro	Dark Greenish Olive XXX 23 '' m.	3 mm.
169	(4)	escaso	gris	Yow Green XXXI 27 '' m	3 mm.
170	(4)	escaso	grisáceo	Ivy Green XXXI 25 '' m	2 mm.
171	(4)	no sobrelevado	grisáceo	Lincoln Green XLI 25 ''' k	2 mm.
172	(4)	escaso	grisáceo	Pois Green XLI 29 ''' i	2 mm.
173	(4)	escaso	gris	Slate-Olive XLVII 29 '''' i	3 mm.
174	(4)	escaso	gris	Leaf Green XLI 29 ''' k	3 mm.
175	(4)	escaso	gris	Leaf Green XLI 29 ''' k	2 mm.
176	(4)	escaso *	gris ceniciento	Leaf Green XLI 29 ''' k	4 mm.
177	(4)	escaso	gris ceniciento	Deep Grape Green XLI 25 ''' i	2 mm.
178	(4)	escaso	gris	Deep Greenish Glaucous XLI 29 ''' d	3 mm.
179	$(4)_1$	escaso	rosado	American Green XLI 33 ''' i	1 mm.
180	$(4)_1$	abundante	rosado	American Green XLI 33 ''' i	3 mm.
181	$(4)_1$	abundante	rosado	Leaf Green XLI 29 ''' k	2 mm.
182	$(4)_1$	abundante	rosado	Dusky Yellowish Green XLI 27 ''' m	3 mm.
183	$(4)_1$	abundante	rosado	Slate-Olive XLVII 29 '''' i	2 mm.
184	$(4)_1$	abundante	gris ceniciento	Grayish-Olive XLVI 21 '''' —	2 mm.
185	$(4)_1$	abundante	gris ceniciento	Lincoln Green XLI 25 ''' k	2 mm.
186	$(4)_1$	abundante	rosado	Pois Green XLI 29 ''' i	2 mm.
187	$(4)_1$	abundante	rosado	Asphodel Green XLI 29 ''' —	2 mm.

(3) Chacra Experimental de Pereira Iraola, variedad Cercopoly.

(4) Establecimiento ''Del Sud'' (Mar del Plata), variedad K. W. N.

$(4)_1$ Establecimiento ''Del Sud'' (Mar del Plata), variedad K.W.Z.

(*) Producción de conidios.

Nº de cepas	Procedencia	Desarrollo del micelio aéreo	Color del micelio aéreo	Pigmentación del substrato	Profundidad de la pigmentación en el medio de cultivo
188	$(4)_1$	abundante	rosado	Pois Green XLI 29 ''' i.	2 mm.
189	$(4)_1$	abundante	rosado	Andover Green XLVII 25 '''' i.	3 mm.
190	$(4)_1$	abundante	rosado	Leaf Green XLI 29 ''' k	3 mm.
191	$(4)_1$	escaso	rosado	Dusky-Olive-Green XLI 25 ''' m.	3 mm.
192	$(4)_1$	escaso	rosado	Lincoln Green XLI 25 ''' k	2 mm.
193	$(4)_1$	abundante	rosado	Lincoln Green XLI 25 ''' k	2 mm.
194	$(4)_1$	abundante	rosado	Leaf Green XLI 29 ''' k	2 mm.
195	$(4)_1$	abundante	gris	Dull Blachish Green XLI 29 ''' m	2 mm.
196	$(4)_1$	escaso	gris	Pois Green XLI 29 ''' i	1 mm.
197	$(4)_1$	escaso	gris	Deep Grape Green XLI 25 ''' i	2 mm.
198	$(4)_1$	escaso	gris	Lincoln Green XLI 25 ''' k	2 mm.
199	$(4)_1$	escaso	gris	Lincoln Green XLI 25 ''' k	2 mm.
200	$(4)_1$	escaso	gris	Pois Green XLI 29 ''' i.	2 mm.
201	$(4)_1$	escaso	gris	Pois Green XLI 29 ''' i	2 mm.
202	$(4)_1$	escaso	gris	Deep Grape Green XLI 25 ''' i	2 mm.
203	$(4)_1$	escaso	gris	Deep Grape Green XLI 25 ''' i	2 mm.
204	$(4)_1$	escaso	gris	Deep Grape Green XLI 25 ''' i	2 mm.
205	$(4)_1$	escaso	gris	Deep Grape Green XLI 25 ''' i	2 mm.
206	$(4)_1$	escaso	gris rosado	Dark American Green XLI 29 ''' k	1 mm.
207	$(4)_1$	escaso	gris	Dull Blachhish Green XLI 29 ''' m.	1 mm.
208	$(4)_1$	escaso *	gris	Leaf Green XLI 29 ''' k.	2 mm.
209	$(4)_1$	escaso		Pois Green 29 ''' i XLI	2 mm.
210	$(4)_1$	escaso	rosado	Deep Grape Green XLI 25 ''' i.	2 mm.
211	$(4)_1$	abundante	amarillento	Asphodel Green XLI 29 ''' —	1 mm.
212	$(4)_1$	escaso		Pois Green 29 ''' XLI-i	2 mm.
213	$(4)_2$	abundante	rosado amarillento	Hay's Lilac XXXVII 63 '' d	1 mm.
214	$(4)_2$	abundante	rosado amarillento	Hay's Lilac XXXVII 63 '' d	1 mm.
215	$(4)_2$	abundante	rosado amarillento	Hay's Lilac XXXVII 63 '' d	1 mm.
216	$(4)_2$	blanco en parte amarillento	rosado amarillento	Olive XXX 21 '' m.	1 mm.
217	$(4)_{2\,o}$	abundante	rosado amarillento	Hay's Lilac XXXVII 63 '' d	1 mm.

$(4)_1$ Establecimiento ''Del Sud'' (Mar del Plata), variedad K.W.Z.

$(4)_2$ Establecimiento ''Del Sud'' (Mar del Plata), variedad U.S. 52.

(*) Producción de conidios.

Nº de cepas	*Procedencia*	*Desarrollo del micelio aéreo*	*Color del micelio aéreo*	*Pigmentación del substrato*	*Profundidad de la pigmentación en el medio de cultivo*
218	$(4)_2$	abundante	rosado amarillento	Hay's Lilac XXXVII 63 '' d	1 mm.
219	$(4)_2$	abundante	rosado amarillento	Hay's Lilac XXXVII 63 '' d	1 mm.
220	$(4)_2$	abundante	rosado amarillento	Olive XXX 21 '' m.	1 mm.
221	$(4)_2$	abundante	rosado amarillento	Hay's Lilac XXXVII 63 '' d	2 mm.
222	$(4)_2$	no sobrelevado	grisáceo	Jade Green XXXI 27 '' k	2 mm.
223	$(4)_2$	escaso	gris	Grayish-Olive XLVI 21 '''' —	2 mm.

$(4)_2$ Establecimiento ''Del Sud'' (Mar del Plata), variedad U.S. 52

RESEÑAS BIBLIOGRÁFICAS

636.92.084.5

AITKEN, F. C. y WILSON, W. KING. Alimentación del conejo para carne y peletería. Trad. de Dr. J. E. Escobar. Zaragoza, Acribia, 1965 p. 36 tablas.

Esta obra es una magnífica recopilación que revisa el moderno material bibliográfico existente sobre alimentación del conejo, con miras a ser útil al científico interesado en esta especie como sujeto biológico y al productor de carne y piel en escala comercial. Los autores, eminentes especialistas en nutrición animal, han logrado un tratado tan completo y profundo que va camino rápidamente de la 3ª edición inglesa.

N.R.

631.1

BENEKE, RAYMOND R. Dirección y administración de granjas. Trad. del Ing. Agr. José Soto Angli México, Centro regional de ayuda técnica A.I.D. 1965. 550 p. ilus.

Este libro ha sido escrito con la convicción de que el éxito en las complicadas actividades agrícolas de hoy, requiere un alto grado de habilidad así como conocimientos técnicos. Para ayudar a adquirir mejor esos requisitos, cada capítulo presta particular atención a los "problemas de manejo", los cuales, a su vez, se consideran desde el punto de vista de los principios económicos y factores aplicables al hacer las decisiones.

Se ha puesto especial cuidado en las decisiones que involucran los cultivos y la cría del ganado, pues cada decisión que toman los agricultores tienen implicaciones monetarias. Tanto los problemas como el material que se usan para ilustración en el texto han sido tomados de una gran variedad de situaciones y estudios de investigación.

636.2:619:612.015.3

BLAXTER, K. LYON. Metabolismo energético de los rumiantes. Trad. del Dr. Gaspar González y González. Zaragoza, Acribia, 1965. 314 p. ilus.

Es una traducción de la edición inglesa por el Dr. Gaspar González y González de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Madrid, publicada por la Editorial Acribia. Este libro continúa con un grupo de traducciones referentes a las Ciencias Veterinarias que ha emprendido esta Editorial, de gran utilidad para nuestra profesión.

Se trata de una obra muy interesante y completa en la que hay mucha expe-

riencia personal del autor y sus colaboradores, ampliada con una detallada bibliografía en los temas desarrollados.

El libro está dividido en cuatro secciones: las tres primeras tratan la parte teórica y experimental sobre, a) Los métodos y técnicas utilizadas en los estudios de metabolismo energético; b) El gasto de energía de los rumiantes; c) La utilización de la energía del alimento; y la cuarta parte se refiere a la aplicación práctica de los descubrimientos experimentales.

Es un libro muy recomendable para todos aquellos que están interesados en nutrición y sus trastornos.

001.8

BONFANTI, CELESTINO. La investigación bibliográfica y la comunicación técnica; manual para los estudiantes de ingeniería agronómica. (En: Revista de la Facultad de agronomía de la universidad central de Venezuela, alcance n. 8, abril 1965. Maracay, Venezuela).

Acaba de aparecer esta valiosa obra, fruto de largos años de labor y experiencia dentro de la investigación bibliográfica y la redacción científica del autor; profesor y bibliotecario de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela.

Tanto el investigador como el estudiante encontrarán en esta obra amplia información sobre el funcionamiento y organización de una biblioteca de tipo universitario y sobre las principales fuentes de información en el campo de la agricultura y materias afines, recibiendo también orientación para el uso de los repertorios bibliográficos.

Se hace hincapé en la enseñanza de los principios y las normas relativas a las anotaciones bibliográficas, a la elaboración de bibliografías científicas como medio de documentación para sus propios trabajos y necesaria fuente de información para los demás. Da también a conocer las normas para la estructura y redacción del escrito científico como punto final de la investigación.

Es digno de destacar que desde el año 1953 en la Facultad de Agronomía de Maracay se dictó como materia optativa el curso llamado "Instrucciones para el uso de la biblioteca y preparación de bibliografías", y que a partir de 1959 se contempla como obligatoria la materia "Biblioteca y redacción técnica". Fruto de todo esto fue la aparición del primer trabajo del autor sobre este tema, cuyo contenido sirvió en parte como base para la presente obra.

La orientación general de la obra y su ordenación le dan una jerarquía especial que la convertirá, sin duda alguna, en un auxiliar valioso para docentes de bibliotecología, bibliotecarios técnicos, investigadores y estudiantes avanzados en ciencias agrícolas.

A. FERNÁNDEZ

576.8:619

BORCHERT, A. Parasitología veterinaria. Zaragoza, Acribia, 1964. 745 p. ilus.

Este libro es una traducción de Lehrbuch der Parasitologie für Tierärzte, 3ª edición, del mismo autor, Leipzig, Alemania. Traductor: Dr. Miguel Cordero del Campillo, prof. de Parasitología y Enfermedades Infecciosas de la Fac. de Veterinaria de León, España.

Entre las obras de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, traducidas y a nuestro alcance, creo que la del epígrafe es la más eficaz para estudiantes y profesionales, no especializados; pero sí preocupados en el conocimiento de esta disciplina.

Las páginas que lo componen, está ilustradas con abundantes figuras, algunas de las cuales son originales.

Los temas clásicos de la materia, están desarrollados como corresponde, así como los de higiene y antropozoonosis parasitarias.

Las enfermedades parasitarias que afectan a los animales del país, por cierto, no cuentan con la información y amplitud necesaria —en la mayoría de los casos.

Nomenclatura, etiología y tratamiento de algunas enfermedades no coinciden con nuestra escuela.

La obra contiene 36 páginas de generalidades, parasitosis y lucha contra las mismas. Diagnóstico. A continuación estudia los Platelmintos en 170 páginas. Sigue con los nematelmintos y Artrópodos, ocupándose de los Protozoarios después, y, terminando con análisis coprológicos, orina, sangre, piel, etc. Medidas profilácticas desde todo punto de vista.

Cuenta con 772 citas bibliográficas, señaladas oportunamente al pie de cada tema, y un índice alfabético de materias.

R. J. ROVEDA

636.5:619:611

EDE, D. A. Anatonia de las aves. Zaragoza, Acribia, 1966. 180 p. ilus.

El libro que comentamos fue escrito por D. A. Ede y traducido del inglés por José Sandoval Juárez. Acaba de llegar a nuestro medio en una edición de Acribia.

Se encuentra dividido en 5 capítulos.

En el capítulo I, que es el más breve y el de menor importancia, el autor hace una introducción al estudio de las aves, explica la variación genética y domesticación de las gallináceas y termina describiendo los caracteres morfológicos externos de la gallina.

En el capítulo II se explica el revestimiento corporal, con el estudio de las plumas.

El capítulo III abarca la descripción del aparato locomotor (esqueleto y músculos). Es el de mayor extensión e importancia de la obra.

El capítulo IV está destinado al estudio de las vísceras. Describe las técnicas para disecar el cuerpo y abrir la cavidad del mismo. Desarrolla los aparatos digestivo, circulatorio y genitourinario.

El capítulo V es el correspondiente a la enseñanza de la cabeza, del aparato respiratorio y del sistema nervioso.

La obra incluye una breve bibliografía complementaria en la que predominan las citas americanas e inglesas.

Finaliza con un cuadro comparativo entre las nomenclaturas de los músculos utilizadas por Marshall y Chamberlain.

Ilustrado con 66 dibujos esquemáticos distribuidos a lo largo de 136 páginas, la obra resulta útil para el estudiante de veterinaria y de ciencias naturales como también para el que se dedique a la fisiología de esta especie.

V. R. DE VERA

63(026)

GUIA, agropecuaria argentina 1965-66. Buenos Aires, Agropec, 1965. 700 p.

Acaba de ponerse en circulación la primera Guía Agropecuaria Argentina, correspondiente a 1965-66.

Las páginas que lo componen, está ilustradas con abundantes figuras, algunas de las cuales son originales.

Los temas clásicos de la materia, están desarrollados como corresponde, así como los de higiene y antropozoonosis parasitarias.

Las enfermedades parasitarias que afectan a los animales del país, por cierto, no cuentan con la información y amplitud necesaria —en la mayoría de los casos.

Nomenclatura, etiología y tratamiento de algunas enfermedades no coinciden con nuestra escuela.

La obra contiene 36 páginas de generalidades, parasitosis y lucha contra las mismas. Diagnóstico. A continuación estudia los Platelmintos en 170 páginas. Sigue con los nematelmintos y Artrópodos, ocupándose de los Protozoarios después, y, terminando con análisis coprológicos, orina, sangre, piel, etc. Medidas profilácticas desde todo punto de vista.

Cuenta con 772 citas bibliográficas, señaladas oportunamente al pie de cada tema, y un índice alfabético de materias.

R. J. Roveda

636.5:619:611

Ede, D. A. Anatonia de las aves. Zaragoza, Acribia, 1966. 180 p. ilus.

El libro que comentamos fue escrito por D. A. Ede y traducido del inglés por José Sandoval Juárez. Acaba de llegar a nuestro medio en una edición de Acribia.

Se encuentra dividido en 5 capítulos.

En el capítulo I, que es el más breve y el de menor importancia, el autor hace una introducción al estudio de las aves, explica la variación genética y domesticación de las gallináceas y termina describiendo los caracteres morfológicos externos de la gallina.

En el capítulo II se explica el revestimiento corporal, con el estudio de las plumas.

El capítulo III abarca la descripción del aparato locomotor (esqueleto y músculos). Es el de mayor extensión e importancia de la obra.

El capítulo IV está destinado al estudio de las vísceras. Describe las técnicas para disecar el cuerpo y abrir la cavidad del mismo. Desarrolla los aparatos digestivo, circulatorio y genitourinario.

El capítulo V es el correspondiente a la enseñanza de la cabeza, del aparato respiratorio y del sistema nervioso.

La obra incluye una breve bibliografía complementaria en la que predominan las citas americanas e inglesas.

Finaliza con un cuadro comparativo entre las nomenclaturas de los músculos utilizadas por Marshall y Chamberlain.

Ilustrado con 66 dibujos esquemáticos distribuidos a lo largo de 136 páginas, la obra resulta útil para el estudiante de veterinaria y de ciencias naturales como también para el que se dedique a la fisiología de esta especie.

V. R. de Vera

63(026)

GUIA, agropecuaria argentina 1965-66. Buenos Aires, Agropec, 1965. 700 p.

Acaba de ponerse en circulación la primera Guía Agropecuaria Argentina, correspondiente a 1965-66.

La misma contiene una copiosa recopilación de material técnico e informativo sobre las diversas facetas del quehacer agropecuario argentino: historiales de razas, nóminas de criadores, cuadros estadísticos, guías de entidades pecuarias y asociaciones rurales, etc.

Incluye trabajos sobre clasificación y tipificación de carnes vacunas; enfermedades de los animales; crianza de terneros y vientres vacíos; mortalidad de los corderos en el período neonatal; genética; dosificación y empleo de los principales medicamentos; regiones de pastoreo; pocas de siembra y cosecha; malezas argentinas; forestación; calendarios sobre patología vegetal, floricultura, avicultura, ganadería y gestación; fertilizantes; herbicidas; principales laboratorios y sus productos específicos.

Otras notas y comentarios se hallan referidos al sentido económico del latifundio; mecanización rural; crecimiento de la población argentina; asistencia técnica de las Naciones Unidas; exportaciones agropecuarias; enseñanza agropecuaria; producto bruto agropecuario y su relación con el P. B. N.

Constituye pues una positiva obra de consulta, notable por su amplitud y actualización, que destaca la labor de sus realizadores al brindar un panorama de información procesado por especialistas y redactado de forma clara y didáctica de modo que, sin apartarse de su rigor científico, se hace accesible a todo tipo de lector.

La Guía Agropecuaria Argentina aparecerá anualmente y es auspiciada por importantes entidades del medio a que está dirigida, así como por empresas de todos los sectores económicos del país, ya que su enfoque abarca todos los campos que directa e indirectamente están vinculados a la producción agropecuaria argentina: ciencia, técnica, industria, gobierno, comercialización, etc.

Agropeo Editorial, es el nuevo sello editor que avala este bien logrado propósito, cuyos directores son los señores Enrique Vidal Molina —que dirigió la realización de la Guía—, Héctor Chaponick y Manuel Guerreiro.

N. DE LA R.

636.92.619.616

LESBOUYRIES, G., *Enfermedades del conejo*. Traducido del francés por el Dr. J. E. Escobar. Zaragoza, Acribia, 1965. 296 págs., 62 fotografías y 4 láms. color.

Sólo una personalidad científica de la magnitud del profesor Lesbouyries, mundialmente conocido, podía coronar felizmente el intento de verter en un libro de manera sistemática los conocimientos clásicos y los adelantos más recientes sobre la patología del conejo. He aquí su obra: un completísimo tratado de las enfermedades de esta productiva especie animal, cada una de las cuales se halla expuesta con claridad y absoluto rigor científico.

N. DE LA R.

636.4.081

SCARABOROUH, C. C., *Cría del ganado porcino*. México, Limusa - Wiley, Primera edición en español, 1965, 317 p. Distribuidores en la Argentina: Acmé Agency, Suipacha 245, Buenos Aires.

Este libro incluye los datos procedentes de experimentos y estudios realizados por las escuelas agrícolas y estaciones experimentales del Sur de los Estados Unidos.

La demanda de carne de cerdo sin grasa, ha conducido a la creación del cerdo tipo para carne, para la que se necesita hacer cruzas para tal fin, así como llevar a cabo una alimentación decuada. En esta obra se procura informar ampliamente sobre el tema.

382.6:63(73:8=6)

WIRTH, CARLOS A.: *"Las exportaciones agrícolas de Estados Unidos a América Latina"*. (Con especial referencia a las exportaciones realizadas por programas específicos del Gobierno norteamericano.) Publicación de Asociación Latinoamericana de Libre Comercio (ALALC). Serie Documentos, Nº 2. 96 p. 96 p. Montevideo (Uruguay), 1966.

En este trabajo se analiza la evolución de las exportaciones norteamericanas de productos agrícolas a los países de América Latina en el decenio de 1954/55-1963/64, y, en particular, las exportaciones agrícolas de Estados Unidos realizadas en función de los términos de la Ley de Asistencia y Fomento del Comercio Agrícola, más conocida como Ley Pública 480.

El estudio consiste en tres partes principales: en la primera de ellas, se pasa revista a la política de exportaciones agrícolas seguidas en Estados Unidos para promover las ventas al exterior de productos básicos, efectuándose un análisis retrospectivo de las acciones que tuvieron lugar y de los mecanismos que se aplicaron desde 1920 hasta nuestros días; la segundo parte registra la evolución cualitativa y cuantitativa de las exportaciones agrícolas de Estados Unidos a los países latinoamericanos en el decenio señalado, con énfasis en las exportaciones realizadas por la Ley Pública 480, y destacando el destino, valor y composición de tales exportaciones por países, áreas económicas y geográficas y, en el caso de los envíos por la Ley 480, según los programas específicos del Gobierno norteamericano; la parte final del trabajo se refiere explícitamente a los problemas que suscitan las exportaciones agrícolas subvencionadas por los Estados Unidos a América Latina y su incidencia en las políticas de exportación de los países que compiten con aquél en el mercado internacional, el efecto que tales exportaciones ejercen en la agricultura de los países recipientarios de la ayuda alimenticia, así como también se destaca el esfuerzo que se realiza en el plano de las negociaciones internacionales para limitar los efectos de dicha ley en la evolución del comercio mundial de materias primas de origen agrícola.

Concluye esta parte analítica con varias conclusiones y perspectivas para el intercambio agrícola latinoamericana y el trabajo se complementa con un Anexo que incluye 37 cuadros estadísticos y 20 gráficos. El trabajo está muy bien impreso y sobriamente presentado y los gráficos a dos colores explican eficientemente las tendencias y evolución de cifras e índices a través del tiempo.

Los conceptos incluídos en la parte de conclusiones y perspectivas presentan un futuro no muy optimista en cuanto a la proyección del comercio agrícola interlatinoamericano, idea que se fundamenta en aspectos derivados de la expansión de las producciones agrícolas norteamericana y de Europa Occidental, el aumento de la productividad en estos países, la persistencia de financiamientos especiales a las exportaciones agrícolas y a los problemas de baja productividad, expansión demográfica y de balanzas comercial y de pagos de los países latinoamericanos.

Este estudio puede resultar un interesante documento de consulta para estudiosos de temas de comercio internacional y de política comercial y garícola.

030.8:61

DICCIONARIO de ciencias médicas Dorland. Versión y adaptación de la 24. ed. inglesa. Buenos Aires [etc] El Ateneo [1966]. 1664 p. lám.

Versión castellana adaptada de la XXIV edición inglesa., impresa por "El Ateneo" de Buenos Aires. Consta de 1664 páginas, con 215 ilustraciones, 27 cuadros y 50 láminas médicas y anatómicas. La edición en el idioma original constituye uno de los diccionarios de Ciencias Médicas más difundido y antiguo de los EE.UU.

Contiene más de 100.000 tecnicismos usuales en Ciencias Médicas y 30.000 sinónimos revisados y actualizados por un Comité Especial formado por prestigiosos profesionales de diversas Universidades Estadounidenses. Entre los asesores Argentinos que intervinieron en la preparación de los textos especiales de la edición local figuran entre otros los doctores en Medicina, J. A. Aguirre., R. R. Garino., J. F. Cardama., V. Carnevale., M. Celaya., C. J. Calatroni., J. C. Gatti., M. Litter., A. D. Marenzi., E. Dameno., A. Mosovich., S. D. Provenzano y C. Anguiano (Médico Veterinario).

A la edición castellana se han incorporado voces y definiciones de uso común entre profesionales de habla hispana.

En la obra se registra, después de la definición de cada vocablo, el o los sinónimos que de él conocen.

El diccionario que comentamos ha dado cabida a las nomenclaturas de anatomía, química y bacteriología, actualizadas internacionalmente. No obstante ello registra también los términos antiguos que han sido reemplazados o anulados.

Lleva en el apéndice titulado "Fundamentos de Lexicografía Médica" una explicación de las maneras como pueden formarse en castellano las voces técnicas e incluye en él una lista de los componentes de origen griego y latín que forman esas palabras, con indicación de su etimología, significado y términos de los que forman parte. Como la mayoría de los nuevos términos se constituyen por la unión de dos o más de esos componentes el lector puede conocer el significado de cualquier vocablo, aunque no esté reflejado en el Diccionario, analizando los elementos constitutivos.

VÍCTOR R. DE VERA

SE TERMINÓ DE IMPRIMIR EN LA IMPRENTA
DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
EL 10 DE NOVIEMBRE DE 1966