



Gobierno  
**Bolivariano**  
de Venezuela

Ministerio del Poder Popular  
para la **Agricultura y Tierras**

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas

omía  
Tropical

Agronomía  
Tropical

Agronomía  
Tropical

Agronomía  
Tropical

# Agronomía Tropical

Depósito Legal: pp. 195102AR73

ISSN: 0002 - 192X

AÑO 61 VOL. 61 No. 3 2011

# AGRONOMÍA TROPICAL

Agronomía Trop.

Revista trimestral del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas  
Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras  
Maracay, Venezuela

# **INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS AGRONOMÍA TROPICAL**

Tatiana Pugh Moreno  
Presidente

Orlando Moreno  
Gerente General

Jonathan Coello  
Gerente de Producción Social

Margaret Gutiérrez  
Gerente de Investigación e Innovación Tecnológica

## **FUNDADORES (AS)**

Luis Medina (Dir.), Bruno Mazzani, W. S. Iljin, Rafael Pontis Videla, Jesús Silva Calvo, Gino Malagutti, Guisepe Ravanello, Luis A. Salas F., S. Horovitz, P. Obregón y Dora M. de Zerpa.

## **COORDINACIÓN EDITORIAL**

Tatiana Pugh  
Editora Jefe

Thamara Rojas  
Editora Técnica

Carlos Hidalgo  
Editor Técnico

María Escalona  
Seguimiento

Carmen Solórzano  
Diagramadora

## **EDITORES (AS) ASOCIADOS (AS)**

Abarca, Oscar. ACAV  
Acevedo, Marco. INIA  
Brito, Julia. INIA  
Cásares, Marjorie. UCV

Gutiérrez, Margaret. INIA  
Ortiz, Aida. UCV  
Pérez, Delis. INIA  
Velásquez, Lorenzo. INIA

## **CONSEJO DE REDACCIÓN**

Aparecido, Rodrigo. ESA. Brasil  
Baldizán, Alfredo. UNERG  
Borroto, Omelio. ICA. Cuba  
Cadenas, Maryorie. FUNDACITE  
Centeno, Ángel. UCV  
Colmenares, Griselda. UCV  
Comerma, Juan. INIA  
Daiuto, Erika. UNESP. Brasil  
De Freitas, Elías. EMBRAPA. Brasil  
Díaz, Daniel. INTA. Argentina  
Fuchs, Morela. INIA  
Garea, Bárbara. INSTEC. Cuba  
Gil, Freddy. UCV  
Hidalgo, Carlos. INIA  
Kosky, Rafael. IBP. Cuba  
Marín, Merilyn. INIA  
Martínez, Siomara. CENSA. Cuba

Méndez, Jesús. UDO  
Montilla, Joan. INIA  
Núñez, Mauricio. ACAV  
Ordosgoitti, Alfonso. INIA  
Ormeño, Mariangélica. INIA  
Perozo, José. INIA  
Quijada, Osmar. INIA  
Rengifo, Oscar. UNERG  
Rodríguez, Iraidá. INIA  
Rojas, Thamara. INIA  
Romero, Alfredo. INIA  
Salazar, Margelys. INIA  
Sánchez, Iris. INIA  
Silva, Iris. INIA  
Tablada, Lydia. CENSA. Cuba  
Vergara, Juan. INIA  
Vivas, Luis. INIA

## AGRONOMÍA TROPICAL

Vol. 61 - 2011

Julio - Diciembre

Nº 3 - 4

ISSN 0002-192X

Depósito Legal pp 195102AR73

### TABLA DE CONTENIDO

<b>Artículos:</b>	<b>Pág.</b>
MALDONADO GÓMEZ, R. J., M. RODRÍGUEZ, L. R. LLANCA CÓRDOVA, Y. J. ROMÁN MONTILLA, R. ISTURIZ VÁSQUEZ, O. J. GIMÉNEZ ALFARO, L. A. GÁMEZ MENDOZA y B. MELÉNDEZ. Esquema tecnológico general y caracterización del queso hilado tipo telita..... General technological flow diagram and characterization of filata cheese telita type.	177
SALAZAR, L. A., G. Y. APONTE, N. H. SANABRIA, E. SALAZAR y L. CASTRO. Aislados de <i>Trichoderma</i> spp. caracterizados por isoenzimas..... Isolated of <i>Trichoderma</i> spp. characterized by isoenzymes.	189
ORTIZ, A. y L. LÓPEZ. Control de arroz maleza..... Rice weed control.	199
ALFONZO, N., M. ESPAÑA, M. LÓPEZ, E. CABRERA-BISBAL y P. ABREU. Eficiencia de uso del nitrógeno en arroz de secano en un suelo ácido del occidente del estado Guárico..... Nitrogen use efficiency in upland rice in a acid soil in western Guárico State.	215
SANTANA M., G. F. y J. ASCENCIO. Capacidad de crecimiento de <i>Crotalaria juncea</i> L. en condiciones de deficiencia de fósforo..... Growth strategies in <i>Crotalaria juncea</i> L. under phosphorus deficiency.	221
ROMERO MAZA, L., M. GUEVARA, B. ARREDONDO-VEGA, B. GÓMEZ, B. LICETT y L. FREITES. Cantidad de lípidos, ácidos grasos, minerales y exopolisacáridos en fotobiorreactores inoculados con cianobacteria..... Quantity of lipids, fatty acids, minerals and exopolysaccharides in photobioreactors inoculated with cyanobacteria.	231
SÁNCHEZ, M. del C., R. NAVARRO y C. MARÍN. Duración de la fase adulta y emergencia de machos y hembras del perforador del fruto de cacao en Choroni y Maracay, estado Aragua..... Adult phase duration and males and females emergency of cocoa fruit borer in Choroni and Maracay, Aragua State.	241
FERNÁNDEZ, A., R. VILLAFANE y R. HERNÁNDEZ. La calidad del agua y la afectación de los suelos por sales en la península de Paraguaná, Venezuela..... Water quality and effectation of soils by salts in Paraguaná, Venezuela.	253
BARRIOS MAESTRE, R., D. MARK, E. RIVAS, J. FARIÑAS, J. SALAZAR y G. RODRÍGUEZ. Efecto del déficit hídrico sobre el ciclo productivo de la palma aceitera en el estado Monagas, Venezuela..... Effect of water deficit on productive cycle of oil palm in Monagas State, Venezuela.	267

## RECONOCIMIENTO

La Editora Jefe y quienes conforman el Equipo Editorial de la revista científica **Agronomía Tropical**, agradecen a los especialistas que se mencionan, por colaborar con el proceso de revisión a los trabajos de investigación que se publican en el volumen 61, del año 2011:

Julia Gilabert de Brito (J)	INIA-CENIAP. Venezuela
Magaly Ruiz	UNERG. Ingeniería Agronómica. Venezuela
Orlando Moreno	INIA. Gerencia General
María Ormeño	INIA Mérida. Venezuela
Raúl Ramírez	INIA Zulia. Venezuela
José Carreiro	USB. Venezuela
Aleyda Delgado	INIA Lara. Venezuela
Luis Durán	UCLA. Venezuela
Thamara Rojas	INIA - CENIAP. Venezuela
Edgar González	IVIC. Venezuela
Emma Ramírez	INIA Táchira. Venezuela
Enrique Deambrosi	INIA. Uruguay
Morela Fuchs	INIA-CENIAP. Venezuela
Edgar Torres	CIAT. Colombia
Néstor Saldain	INIA. Uruguay
Margelys Salazar	INIA Barinas. Venezuela
Zenaida Lozano	UCV. Facultad de Agronomía. Venezuela
Miguel Ramón	INIA Portuguesa- Venezuela
Carmen Rivero	UCV. Facultad de Agronomía. Venezuela
Elena Medina	INIA Yaracuy. Venezuela
Luis Avilán (J)	INIA-CENIAP. Venezuela
Gelis Torrealba	INIA Guárico. Venezuela
Reina Rojas	INIA-CENIAP. Venezuela
Nancy Contreras	UCLA. Facultad Agronomía. Venezuela
Lorenzo Velásquez	INIA Portuguesa. Venezuela
Gerardo Albarrán	INIA - CENIAP. Venezuela
Orlando De Sousa Vieira	INIA Yaracuy. Venezuela
Humberto Moratinos	UCV. Facultad de Agronomía
Carlos Rincones	INIA-CENIAP. Venezuela
Luisa Caraballo	INIA Anzoátegui. Venezuela
Jesús R. Méndez	UDO. Venezuela
María T. Martelo	UCV. Facultad de Agronomía. Venezuela
Antonio de las Casas	UNC. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Argentina
Oneyda Mengo	INIA. Gerencia General. Venezuela
Alfredo Romero (J)	INIA-CENIAP. Venezuela
Maira Oropeza	UCV. Inst. Biología Experimental. Venezuela
Hilda Fernández	INIA-CENIAP. Venezuela
Rosalía Velásquez	UCV. Facultad Agronomía. Venezuela
Iris Pérez	INIA-CENIAP. Venezuela
Álvaro Vargas	INIA Táchira. Venezuela

./..

Norkys Meza	INIA Trujillo. Venezuela
Ana María Cassasa	LUZ. Facultad de Agronomía. Venezuela
Carlos L. Vásquez	UCLA. Facultad de Agronomía. Venezuela
Teresa Vargas	UCV. Facultad de Ciencias. Venezuela
Iselen Trujillo	UNESR. CEDAT-IDECYT. Venezuela
José Hernández	UNESUR. Genética General. Venezuela
Marta Barrios	UCV. Facultad Agronomía. Venezuela
Álvaro Anzalone	UCLA. Decanato de Agronomía. Venezuela
Ramón Silva Acuña	INIA Monagas. Venezuela
Dercy Parra	INIA Miranda. Venezuela
Noé Aguilar	UADEC. México
María Bertorelli	INIA Anzoátegui. Venezuela
Ángel Torres	INIA Táchira. INIA - CENIAP Venezuela
Gustavo Saldaña	INIA-CENIAP. Venezuela
José Barriero	USB. Ciencia e Ingeniería de Alimentos. Venezuela
Blas Linares	INIA Lara. Venezuela
Roxana Olvera Ramírez	ENCB. Mexico
Annie Silva Acuña	INIA Delta Amacuro. Venezuela
Bestalia Flores	INIA-CENIAP. Venezuela
José Guerrero Alves	UNERG. Venezuela
Giomar Blanco	INIA Yaracuy. Venezuela
Margaret Gutiérrez	INIA Gcia de Investigación Tecnológica e Innovación. Venezuela
Carlos Hidalgo	INIA Gerencia General. Venezuela

\*\*\*

Damos las gracias igualmente, a Juan Vergara, Reinaldo Cardona y Orlando De Sousa Vieira por la corrección de los summaries de la revista.

## ESQUEMA TECNOLÓGICO GENERAL Y CARACTERIZACIÓN DEL QUESO HILADO TIPO TELITA<sup>1</sup>

### GENERAL TECHNOLOGICAL FLOW DIAGRAM AND CHARACTERIZATION OF FILATA CHEESE TELITA TYPE<sup>1</sup>

Ronald J. Maldonado Gómez\*, María Rodríguez\*, Luís R. Llanca Córdova\*, Yasmín J. Román Montilla\*,  
Rosaura Isturiz Vásquez\*, Olymar J. Giménez Alfaro\*\*, Lis A. Gámez Mendoza\* y Bernavé Meléndez\*\*

<sup>1</sup>Trabajo financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, a través del proyecto de grupo PG-01-7384-2008/1. Profesores. Universidad Central de Venezuela (UCV). \*Facultad de Agronomía y \*\*Facultad de Ciencias Veterinarias, respectivamente. Apdo. Postal 4579. Maracay 2105, estado Aragua, Venezuela. Correo electrónico: maldonador@agr.ucv.ve

#### RESUMEN

En Venezuela se elabora artesanalmente un queso que es tradicional en la zona sur del Estado Bolívar llamado telita el cual es obtenido de la pasta hilada pre-acidificada. Es bien conocido el peligro por brotes de intoxicación alimentaria debido al consumo de productos lácteos no pasteurizados. En este sentido, se estudió el esquema tecnológico y la calidad físico-química, microbiológica y sensorial de los quesos telitas almacenados durante 21 d bajo refrigeración a  $\pm 5$  °C. Las muestras se obtuvieron de tres queseras y se propuso un esquema tecnológico general para la evaluación de siete centros de producción ubicados en el estado Aragua. Los puntos críticos del esquema tecnológico, donde es posible una contaminación por patógenos son: recepción de la leche, acidificación de la leche cruda, salado, amasado, moldeado y envasado. El queso telita se caracteriza por presentar alta humedad con un promedio de 58,56%, 46,93% de grasa en base seca (bs), proteína de 43,71% (bs), NaCl al 5,12% (bs), pH 5,2 y 0,56% de acidez. De acuerdo con el contenido de humedad y grasa, los quesos se clasifican como blando y entre graso a semi-graso. A pesar de la susceptibilidad de este queso para el crecimiento de microorganismos patógenos, se demostró que si la población de *Staphylococcus aureus* en el comienzo del período de almacenamiento es de aproximadamente 102 UFC / g en los quesos almacenados a  $\pm 5$ °C, desde el punto de vista microbiológico pueden durar hasta 21 d. Sin embargo, desde el punto de vista sensorial el consumo puede llegar hasta los 7 d debido a la alta acidez desarrollada.

**Palabras Clave:** queso telita; pasta hilada; esquema tecnológico.

#### SUMMARY

In Venezuela is made a cheese artisanal that is traditional in the south of Bolivar state called telita which is obtained from pre-acidified stretched paste. It is well known the danger of food poisoning outbreak due to consumption of unpasteurized dairy products. In this sense, we studied the technological scheme and the physical-chemical, microbiological and sensory quality of the cheese stored for 21 d under refrigeration at  $\pm 5$  °C. Samples were obtained from three cheesemaking and proposed a general technological scheme from the assessment of seven production centers located in Aragua State. The critical points of the technological scheme where was possible a pathogen contamination are: reception of raw milk, milk acidification, salting, kneading, molding and packaging. Telita cheese was characterized by high moisture with an average of 58.56%, 46.93% fat dry base (db), protein 43.71% (db), NaCl 5.12% (db), pH 5.2 and 0.56% acidity. According to the moisture and fat content, the cheeses are classified as soft and semi-fat to fat. Despite the susceptibility of this cheese to the growth of pathogenic microorganisms, it was shown that if the population of *Staphylococcus aureus* at the beginning of the storage period is about 102 CFU / g in cheeses stored at  $\pm 5$  °C, from the microbiological point of view the shelf life of these cheeses is up to 21 d. However, from sensory standpoint is possible its consumption up to 7 d due to high acidity developed.

**Key Words:** telita cheese; filara paste; technological process.

## INTRODUCCIÓN

En Venezuela la producción diaria de leche en el año 2012 se ubicó en 8 millones de litros, los cuales el 80% se destinó para la elaboración de queso (46% queso industrial y 34% para la producción artesanal), esto resalta la gran importancia que tienen los quesos en la procesamiento de la leche (FEGAVEN, 2013).

Desde el punto de vista nutricional los quesos son una excelente fuente de varios nutrientes para la alimentación humana, porque proveen de calcio, proteínas y grasas. Debido a sus características sensoriales, este tipo de alimentos puede llegar fácilmente a la población (Delbes *et al.*, 2006).

El queso blanco tipo telita es un queso de pasta cocida, elaborado exclusivamente con leche de vaca con una presentación típica y completamente artesanal; se comercializa sumergido en suero en envases plásticos a través de redes informales de distribución; por su tecnología, condiciones de almacenamiento y comercialización, tiene una vida útil corta (Márquez y García, 2007).

Entre los microorganismos indeseables que están presentes en la leche se encuentra el *Staphylococcus aureus*, que se caracteriza por formar cocos en racimos, anaerobios facultativos Gram positivos, fermentan el manitol (aeróbica y anaeróbicamente) y otros azúcares, formando ácido pero no gas (Prescott *et al.*, 2003).

Los estafilococos son parte de la flora normal de la piel y mucosas, éstos pueden contaminar los alimentos por el contacto de quienes los manejan o preparan, y que tengan infecciones patógenas agudas o son portadores sanos asintomáticos (Adams y Moss, 1997; Figueroa *et al.*, 2002). También pueden provenir si en el ordeño se mezclan la leche cruda recién ordeñada con leche proveniente de vacas que presentan mastitis (Perrone, 2006).

En particular, *Mycobacterium tuberculosis* es la causa de la enfermedad denominada tuberculosis tanto en el ganado como en los humanos, resultando una infección pulmonar causada por el consumo de leche no pasteurizada o de productos lácteos elaborados a partir de la leche de animales infectados (Rowe y Donahy, 2008). Aunque las micobacterias están entre los patógenos más termorresistentes que pudieran estar presentes en la leche, la pasteurización (63,5 °C por 30 min o 72 °C por 15 seg) los inactivan completamente (Grant *et al.*, 1996).

Se conoce muy poco sobre la relación de la duración con la calidad higiénica de los quesos telitas, no existe un esquema tecnológico bien definido, por lo que se propone uno general, con todos los pasos del proceso de elaboración a partir de la información de campo que se obtuvo de las siete queseras visitadas en cada municipio del estado Aragua.

Por otra parte, se estudiaron las características físico-químicas y microbiológicas del queso telita elaborado a nivel de los centros de producción durante el período de almacenamiento, refrigerado a 5 °C y la relación que tienen estas variables con el grado de aceptación por parte del consumidor.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestreo

Las muestras fueron adquiridas directamente de los tres centros de producción de queso telita ubicados en la ciudad de Palo Negro, municipio Libertador del estado Aragua. En cada centro se recolectó muestras que representaban la producción del día y por 5 d durante la siguiente semana, para un total de 30 muestras (dos réplicas por cinco repeticiones por tres queseras) de tal manera de garantizar el análisis desde el momento de su elaboración y durante el tiempo de almacenamiento de 7, 14 y 21 d refrigerados a  $\pm 5$  °C. Estas muestras se colocaron en bolsas plásticas y se transportaron en cavas con hielo al Laboratorio de Físico-química del Instituto de Química y Tecnología, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, donde fueron inmediatamente analizadas.

### Análisis del esquema tecnológico

Para la realización de esta etapa se visitaron siete centros de producción de queso telita en el estado Aragua. Una vez obtenido el esquema tecnológico de cada centro de producción, se propuso elaborar uno en general que representara a todos los esquemas de fabricación utilizados en cada quesera. Finalmente, cada una de las etapas fue representada a través de un diagrama de flujo tipo ANSI por sus siglas en inglés (Instituto Nacional Estadounidense de Estándares).

### Caracterización físico-química

A los quesos obtenidos en los centros de producción, se les realizó las determinaciones siguientes: en la humedad

norma COVENIN-1077 (1997); grasa COVENIN 1814-81 (1981); proteína COVENIN-370 (1997); determinación de acidez titulable COVENIN-658 (1997); potencial de hidrógeno (pH) COVENIN-1315 (1982); cloruro expresado como porcentaje NaCl en los quesos COVENIN-369 (1986). Para el estudio de los tiempos de almacenamiento a  $\pm 5$  °C en los quesos por 21 d, se realizaron los análisis de humedad, pH, acidez y cloruros, según la metodología señalada.

### Cuantificación microbiológica

#### Preparación de las muestras

Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico: muestras de 10 g de queso se colocaron en bolsas plásticas estériles en presencia de mechero y bajo condiciones de esterilidad. A cada bolsa estéril se le incorporó 90 ml de agua peptonada estéril (APE) al 0,1%, constituyendo de esta manera la dilución  $10^{-1}$ . Luego fue homogeneizada en el Stomacher (Lab-blender 400) por 1 min, posteriormente se efectuaron diluciones seriadas (1:10) hasta  $10^{-6}$  (COVENIN-1126, 1989).

#### Calidad microbiológica del queso telita

En cada centro de producción del queso telita recién elaborado se realizaron los siguientes análisis: cuantificación de bacterias mesófilas según método COVENIN-902 (1987), empleando agar nutritivo (Hi Media; Mumbai, India); se aplicó la técnica de siembra en profundidad en placas e incubadas a 32 °C por un lapso de 24 a 48 h; finalizado el período de incubación se seleccionaron las placas donde aparecieron entre 25 y 250 colonias. Los resultados se reportaron como UFC/g.

La determinación de coliformes totales se estableció por la norma COVENIN-1104 (1996), aplicando la técnica del número más probable en caldo lauril sulfato triptosa (Hi Media; Mumbai, India) para la prueba presuntiva, incubada a 35 °C por un lapso de 24 a 48 h y la confirmativa en caldo lactosado de bilis verde brillante al 2% (Hi Media; Mumbai, India), a 45 °C por un lapso de 24 a 48 h. Los resultados fueron expresados como número más probable por gramo (NMP/g).

En la cuantificación y tipificación de *Staphylococcus aureus* se utilizó la norma COVENIN-1292 (1989) "Alimentos, aislamiento y recuento de *Staphylococcus aureus*" en agar Baird Parker (Hi Media; Mumbai, India)

con 5% de yema de huevo y 1% de telurito, utilizando el método de siembra por superficie con 0,1 ml de la dilución.

### Evaluación sensorial

Se realizó una evaluación sensorial al queso a los 0, 7 y 14 d de almacenamiento refrigerado a  $\pm 5$  °C. No se efectuó la prueba sensorial a los 21 d porque la acidez desarrollada en los quesos para ese período de almacenamiento constituyó un fuerte factor de rechazo por parte de los primeros consumidores y se decidió suspender la prueba como medida de protección al panelista.

Un total de 32 panelistas tipo consumidores efectuaron la evaluación sensorial, la prueba aplicada fue de aceptación (Rating) empleando escalas hedónicas. A cada panelista se le entregó dos muestras de quesos, quienes evaluaron el grado de aceptación de los atributos sensoriales sabor y acidez. Uno de los quesos representó el día de almacenamiento (0, 7 y 14 d) a  $\pm 5$  °C y otro al queso recién elaborado (0 d). En la escala hedónica de cinco puntos: 1) no me gusta (no lo comería); 2) no me gusta (pero lo comería); 3) me da igual comerlo; 4) me gusta; 5) me gusta extremadamente.

### Análisis estadísticos

La información del estudio de humedad, pH, acidez, cloruros y contajes bacterianos (mesofilos, coliformes totales y *Staphylococcus aureus*) durante el período de almacenamiento de 21 d, se procesó estadísticamente aplicando la prueba no paramétrica de Kruskal y Wallis a un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ , considerando los tiempos de almacenamiento como los tratamientos. Asimismo, se determinó el cálculo de los parámetros estadísticos descriptivos (media, desviación estándar, coeficiente de variación, valor mínimo, valor máximo) de las características físico-químicas y microbiológicas del queso.

Para la evaluación sensorial se tomó como objetivo de estudio la aceptación de los panelistas hacia el producto y se establecieron tres tratamientos correspondientes a los quesos almacenados a los 0, 7 y 14 d refrigerados a  $\pm 5$  °C. La información obtenida de la evaluación en los atributos de sabor y acidez se calculó estadísticamente aplicando la prueba no paramétrica de Kruskal y Wallis a un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ . Para el cálculo se empleó el paquete estadístico Statgraphics plus versión 5.1.

## RESULTADOS Y DISCUSION

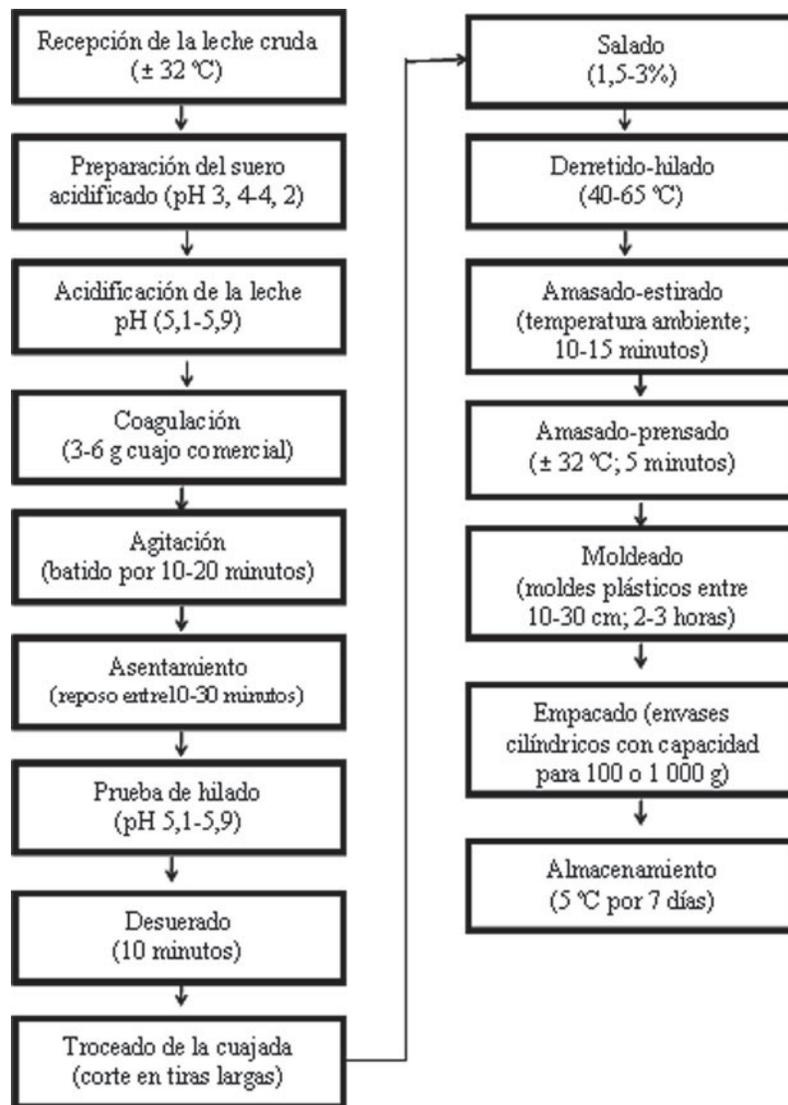
### Esquema tecnológico del proceso de elaboración

En la Figura 1 se muestra el esquema tecnológico general del proceso de elaboración del queso de pasta hilada tipo telita a partir de leche cruda.

Los queseros reciben la leche cruda entera a una temperatura promedio de 35 °C, el suero ácido que se incorporó a la leche para su acidificación es obtenido de la incubación del suero dulce (pH 6,6) a un pH entre 3,4 a 4,2 por un lapso de 24 a 48 h a temperatura ambiente.

Luego se acidificó la leche por adición de suero ácido en una proporción entre 5 al 35%, reduciéndose de manera significativa el pH de la leche de 6,6, aproximadamente entre 5,9 a 5,1 antes del proceso de coagulación.

Posteriormente, la leche se coaguló con la adición del cuajo o renina comercial en polvo (3 a 6 g/100 l leche; 30 a 40 ml/100 l leche). Una vez adicionado el cuajo y el suero acidificado a la leche, esta mezcla se agita (etapa de batido) por un tiempo aproximado de 10 a 20 min hasta que ocurra la separación del suero y obtención de la cuajada. Se dejó asentar la cuajada y se drenó el suero.



**FIGURA 1.** Esquema tecnológico general del proceso de elaboración del queso de pasta hilada tipo telita a partir de leche cruda.

La cuajada compactada se colocó sobre un mesón y se cortan en pequeños trozos de 10 cm de largo y 5 cm de ancho, aproximadamente. Luego se aplica el salado, directamente, es decir, la sal se esparce y se mezcla con la cuajada en una proporción que oscila entre 1,5 y 3,5% en función del peso de la cuajada. Por otra parte, está la opción de preparar una salmuera utilizando 100 g de sal por cada kilogramo de suero, se mezcla esta salmuera con la cuajada en una proporción entre 150 a 350 g de salmuera por cada kilogramo de cuajada.

Inmediatamente, la cuajada acidificada y salada ( $\pm 10$  kg) es colocada en ollas, calderos o pailas, se somete a fuego lento a una temperatura que oscila entre 40 a 65 °C por un lapso de 5 a 10 min. Esta labor de fundición se inicia en la paila (derretido) y continua con el hilado (estiramiento), es decir, la cuajada fundida es estirada en reiteradas ocasiones empleando para ello paletas de madera o neopreno. La cuajada hilada y de aspecto fibroso requiere que toda la masa se conforme en una unidad homogénea con una superficie de color blanco brillante y lisa

Esta conformación altamente compacta es lograda en esta etapa a través de un amasado y estirado sin aplicación de calor (temperatura ambiente) durante 10 a 15 min. Luego, la cuajada es prensada empleando una tabla de madera o neopreno y doblada en forma circular. Este proceso puede durar 5 min.

Cuando la cuajada cocida está homogénea, se corta en trozos de tamaño adecuado al molde cilíndrico de 10 ó 30 cm de diámetro y se deja reposar por un lapso de 2 a 3 h hasta que el queso alcance la temperatura ambiente, se desmoldan y se colocan en envases plásticos. Los quesos empacados se almacenan a temperatura ambiente y se distribuyen para la comercialización o se pueden mantener a temperatura de refrigeración por 7 d.

### Características físico-químicas del queso blanco artesanal tipo telita

En el Cuadro 1 se presentan los resultados de las características físico-químicas del queso blanco artesanal tipo telita.

**Humedad.** El resultado del porcentaje de humedad promedio obtenido para las muestras de queso blanco artesanal tipo telita en la evaluación físico-química fue de 58,56%, con un rango entre 54,28 a 63,18%. Por su parte, Sangronis y García (2007) encontraron que el queso telita presentaba rangos de humedad entre 61,4 a 62,4%. Dave *et al.* (2003) reportaron 53,2% de humedad en queso Mozzarella logrado por acidificación directa, empleando una mezcla de ácido cítrico/ácido acético siendo el porcentaje de humedad sin materia grasa de 75,24%. Estos hallazgos determinaron que, el queso telita presentó una humedad sin materia grasa de 72,89%, clasificándose como un queso de consistencia blanda, según COVENIN-3822 (2003).

**CUADRO 1.** Características físico-químicas de los quesos blanco artesanales tipo telita, recién elaborados a nivel de centros de producción en el sector de Palo Negro, Maracay, estado Aragua.

Parámetros estadísticos	*Humedad (%)		Grasa(%)		Proteína (%Nx6,38)		NaCl (%)		Acidez (% ácido láctico)	pH
	%H	%HSMG	bh	bs	bh	bs	bh	bs		
Media	58,56	72,89	19,7	46,93	18,19	43,71	2,13	5,12	0,56	5,20
DE	3,75	3,82	1,23	2,18	2,70	2,94	0,39	0,50	0,05	0,09
Valor mínimo	54,28	68,12	18	44,5	15,07	40,54	1,7	4,62	0,52	5,10
Valor máximo	63,18	77,05	21	49,36	21,76	47,65	2,7	6,02	0,60	5,30
CV (%)	6,40	5,24	6,23	4,65	14,88	6,74	18,4	10,35	12,03	1,72

\*Tamaño de la muestra n=30. DE=Desviación estándar. CV=Coefficiente de variación. %HSMG= contenido de agua en materia grasa expresado en porcentaje. bh = base húmeda; bs = base seca.

**Grasa.** El valor promedio del contenido de grasa para los diferentes quesos blancos artesanales tipo telita, en base seca (bs) fue de 46,93% con un rango de 44,5 a 49,36%; de acuerdo a la norma COVENIN-3822 (2003) es un queso que se clasifica entre las categorías de graso (45-60%) y semigraso (25-45%). Estos resultados son más altos que los obtenidos por Dave *et al.* (2003) en Mozzarella preacidificado con 41,45% de grasa, tal vez por la falta de estandarización de la grasa, debido a que estos quesos telitas son procesados artesanalmente.

**Proteína.** Para el contenido de proteína en bs se obtuvo una media de 43,71%, con un mínimo 40,54% y máximo de 47,65%, estos valores se encuentran por encima de los obtenidos por Sangronis y García (2007) con un mínimo de 40,0% y máximo de 42,1%. No obstante, Aguilar *et al.* (2006) emplearon suero fermentado en el proceso de acidificación de la leche para la elaboración de un queso de pasta hilada mexicano denominado Oaxaca, logrando proporciones de proteína entre 47,4 y 49,5%, sólo el valor máximo es comparable al reportado por dichos autores. Los valores anteriormente señalados son importantes, porque las proteínas al igual que las grasas son los componentes que influyen significativamente en la firmeza y rendimiento de los quesos (Bazaes, 2004).

**Cloruro de sodio (NaCl).** El porcentaje promedio para el cloruro de sodio (bs) en el queso de pasta hilada tipo telita fue de 5,12%, con un rango de 4,62% a 6,02%. Estas proporciones son muy elevadas respecto a lo establecido por la norma COVENIN-3822 (2003) donde señala que el queso de pasta hilada debe tener como máximo de 3% de cloruro de sodio. Estos valores tan elevados con un coeficiente de variación de 10,35%, pudiera corresponder a que la sal no es pesada en balanzas de medición, al tipo de método de salado (directo o en salmuera) o el agua de hilado no es reemplazada entre cada fabricación, lo cual hace que se acumule mayor concentración de sal. Por el contrario, Dave *et al.* (2003) reportan valores de sal para queso Mozzarella preacidificado de 2,88% en bs el cual se encuentra por debajo del 3%, siendo la proporción recomendada por las normas venezolanas.

**Acidez (% ácido láctico).** En cuanto al porcentaje de acidez se obtuvo un valor promedio de 0,56%, con un valor máximo de 0,60% y mínimo de 0,52%. El coeficiente de variación obtenido fue de 12,03%, el segundo más alto entre los componentes. La adición de suero acidificado de la fabricación del día anterior (pH 3,8) o por la adición de un ácido orgánico (ácido láctico,

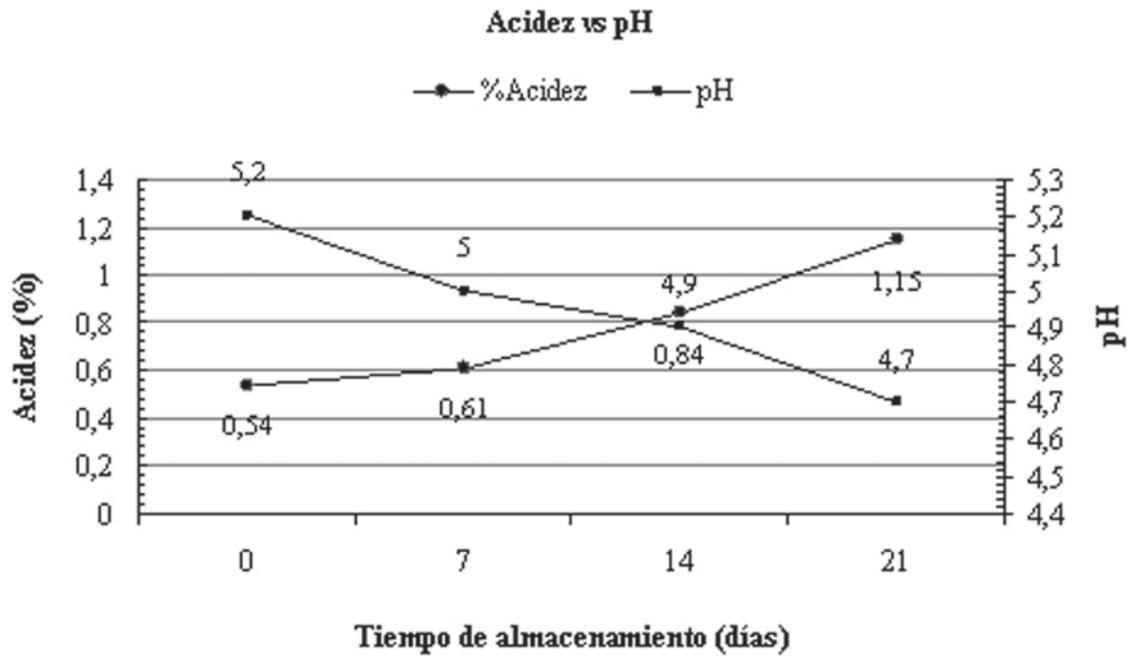
acético o cítrico) previo al proceso de coagulación, es una etapa característica de este tipo de queso. Las propiedades deseables en los quesos de pasta hilada se deben a la acción del ácido láctico sobre el para-caseinato-fosfato-di cálcico, por tanto, a pH entre 5,2 y 5,4 la mayoría de estos componentes se transforman en para-caseinato-fosfato-monocálcico, generando un estiramiento de la cuajada cuando es sometida al calor (Kosikowski, 1958).

**Potencial de Hidrógeno (pH).** El valor promedio para el potencial de hidrógeno (pH) fue de 5,2, con un rango entre 5,1 a 5,3. El valor superior entra en el rango señalado por Cava *et al.* (2006) demostrando valores entre 5,3 a 5,9 para el mismo tipo de queso. Estas diferencias pueden relacionarse al tipo de leche, el tiempo de procesamiento o cantidad de suero acidificado, el cual suele ser diferente entre los queseros. El pH en este tipo de queso representa el pH de hilado, que a diferencia del queso de mano o el queso mozzarella (en donde el pH se consigue fermentando la cuajada previa inoculación con bacterias ácido lácticas), en el queso telita el pH se alcanza por preacidificación de la leche antes del proceso de coagulación (Mohammad *et al.*, 2006)

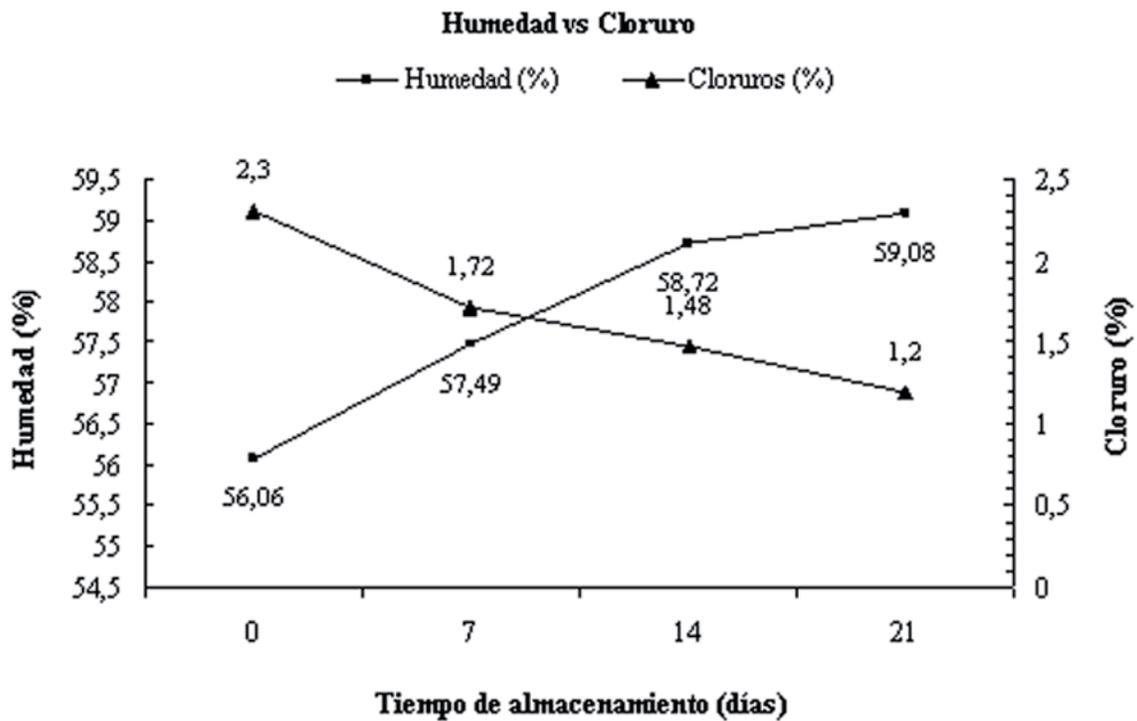
#### **Variación de pH, acidez, humedad y cloruros del queso telita durante el tiempo de almacenamiento refrigerado a $\pm 5$ °C**

Los resultados de la variación de la humedad respecto a los cloruros del queso artesanal tipo telita durante 21 d de almacenamiento a 5 °C se señalan en Figura 2. La humedad del queso telita presenta un aumento estadísticamente significativo ( $P \leq 0,05$ ), a medida que transcurren los días de almacenamiento el %H desde 56% hasta un 59%, experimentan un incremento de 5,38%.

En la Figura 3 se muestra la variación del pH y acidez en el queso artesanal tipo telita durante 21 d de almacenamiento y refrigerado a  $\pm 5$  °C. Se observa que la acidez se incrementa significativamente ( $P \leq 0,05$ ) a medida que se extiende el tiempo de almacenamiento y este crecimiento va desde 0,54% hasta el 1,15%, lo que representa un aumento del 113%. Sin embargo, el pH al inicio (día cero) alcanzó un valor de 5,2 con una ligera disminución de 5,0, posteriormente, obtuvo 4,9 a los 14 d y finalmente a los 21 d el pH fue de 4,7, siendo esta disminución estadísticamente significativa ( $P \leq 0,05$ ) debido a la alta actividad de las bacterias ácido lácticas que tienden a disminuir el pH, por consiguiente producen ácido láctico durante la fermentación natural en el queso (Jana y Mandal, 2011).



**FIGURA 2.** Comportamiento de la humedad, respecto a los cloruros del queso artesanal tipo telita durante 21 días de almacenamiento a  $\pm 5$  °C.



**FIGURA 3.** Comportamiento de la acidez, respecto al pH del queso artesanal tipo telita durante 21 días de almacenamiento a  $\pm 5$  °C.

Con relación a los cloruros hubo una disminución estadísticamente significativa ( $P \leq 0,05$ ) del 92% durante los 21 d de almacenamiento refrigerados a  $\pm 5$  °C, lo anterior se debe al vínculo que posee la sal con el contenido de humedad, puesto que el queso telita durante el tiempo de almacenamiento permanece sumergido en suero, produciéndose un proceso de osmosis que por diferencia de concentración de la sal, el agua fluye del medio hacia el queso, y debido a su capacidad higroscópica por absorber agua, hace que incremente el contenido de humedad, teniendo como consecuencia una disminución en la proporción de cloruro de sodio (Braverman, 1998).

### Cuantificación microbiológica del queso blanco artesanal tipo telita

En el Cuadro 2, se presentan las características microbiológicas obtenidas de 30 muestras recién elaboradas de queso artesanal tipo telita.

#### Mesófilas aerobias

Los resultados obtenidos de la cuantificación microbiológica en cuanto a las bacterias mesófilas aerobias (Cuadro 2), oscilaron entre  $3,5 \times 10^5$  UFC/g a  $1,4 \times 10^7$  UFC/g, alcanzando un valor promedio de  $5,0 \times 10^6$  UFC/g, aunque no existe una norma COVENIN para este tipo de indicador, se pudiera decir que la carga de microorganismo en este tipo de queso es relativamente alta por no tener ningún tipo de control en la etapa del proceso de elaboración que incluye la higiene y buenas prácticas de fabricación.

#### Coliformes totales

En cuanto a los coliformes totales, se obtuvo un conteo mínimo de  $2,4 \times 10^3$  NMP/g (número más probable por gramo), y con un máximo de  $2,4 \times 10^4$  NMP/g, una media muestral de  $1,25 \times 10^4$  NMP/g. Estos valores exceden el valor máximo ( $1,1 \times 10^3$  NMP/g) según lo recomendado por la norma COVENIN-3822 (2003). Igualmente, Rodríguez *et al.* (2009), en su estudio sobre la calidad sanitaria en queso artesanal tipo telita, reportan valores que también superan el criterio establecido en la norma con  $10^5$  NMP/g.

El alto conteo pueden reflejar una deficiente calidad higiénica durante el proceso de elaboración y contaminación en el producto final, debido a factores como falta de higiene en las labores de procesamiento por parte del personal, métodos de limpiezas incompletos, manejo sanitario inadecuado de la leche desde el ordeño hasta el almacenamiento y ausencias de condiciones higiénicas en la infraestructura, el transporte, almacenamiento y comercialización (Márquez y García, 2007).

#### *Staphylococcus aureus*

El recuento de *S. aureus* analizados en el queso telita, presentó un valor promedio de  $9,74 \times 10^3$  UFC/g con valores que oscilaron entre  $1,03 \times 10^2$  a  $2,5 \times 10^4$  UFC/g. Los valores obtenidos están por encima del límite máximo de lo establecido ( $1 \times 10^3$  UFC/g) según COVENIN-3822 (2003), posiblemente, pueda deberse a una mala manipulación durante el proceso de fabricación, en virtud de que el ser humano es portador de la bacteria.

**CUADRO 2.** Cuantificación microbiológica (UFC/g) de los quesos blanco artesanales tipo telita recién elaborado.

Parámetros estadísticos*	Mesófilos aerobios (UFC/g)	Coliformes totales (NMP/g)	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)
Media	$5,0 \times 10^6$	$1,25 \times 10^4$	$9,74 \times 10^3$
Desviación estándar	$7,8 \times 10^6$	$1,09 \times 10^4$	$1,34 \times 10^4$
Valor mínimo	$3,5 \times 10^5$	$2,4 \times 10^3$	$1,03 \times 10^2$
Valor máximo	$1,4 \times 10^7$	$2,4 \times 10^4$	$2,5 \times 10^4$

Coagulasa (-) las 30 muestras

\*Tamaño de la muestra n=30. Coagulasa (+): alta probabilidad de que la cepa encontrada produzca la toxina.

La presencia del género *Staphylococcus* en el alimento, en una carga igual o superior a  $10^4$  UFC/g puede ser la causa de riesgos de intoxicación alimentaria (Dindes *et al.*, 2000). Por su parte, Jablonski y Bohach (2001) determinaron que, contajes de *S. aureus* entre  $10^3$  a  $10^5$  UFC/g, son capaces de producir la enterotoxina en altas proporciones, para ocasionar riesgos de salud pública.

**Comportamiento de las bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales y *Staphylococcus aureus* en el queso blanco artesanal tipo telita durante 21 días de almacenamiento a  $\pm 5$  °C.**

En la Figura 4 se muestra el comportamiento de las bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales y *S. aureus* en el queso blanco artesanal tipo telita.

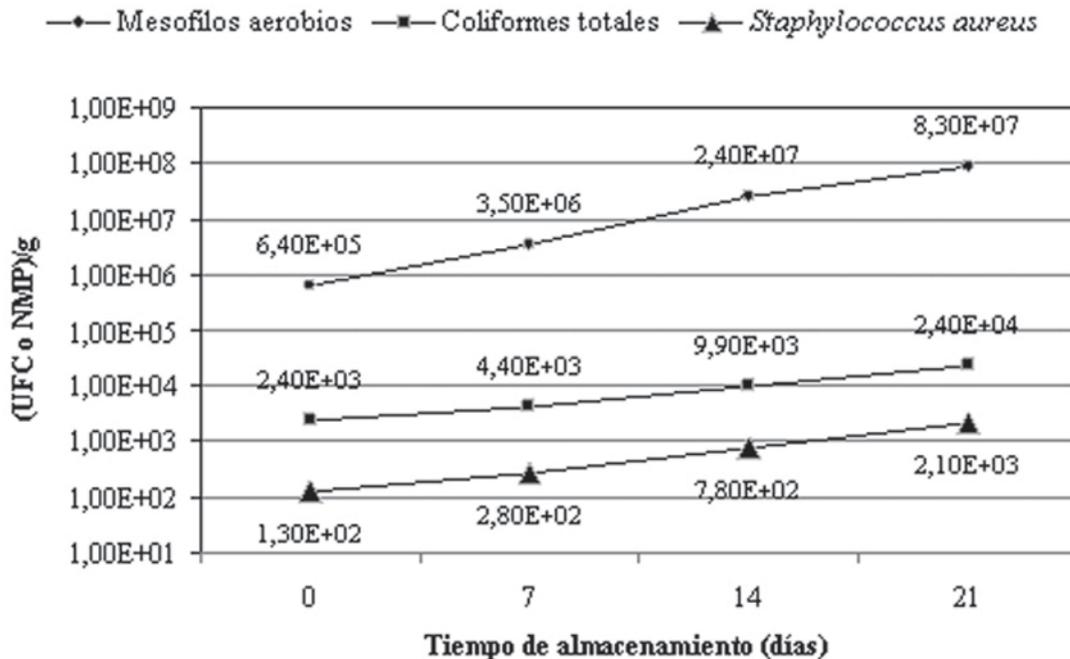
La tendencia observada en todos los contajes fue que, hubo un incremento significativo ( $P \leq 0,05$ ). El aumento de la población durante 21 d de almacenamiento fue de dos ciclos logarítmicos, en mesófilos aerobios, mientras que en coliformes totales y *S. aureus* fue de 1 ciclo logarítmico.

Por su parte, Cava *et al.* (2006) obtuvieron valores en el orden de  $10^5$  UFC/g de *S. aureus* al finalizar el almacenamiento durante cuatro semanas en refrigeración,

dos ciclos logarítmicos por encima de los encontrados en esta investigación. Tomando en cuenta que el máximo valor permitido por las normas COVENIN-3822 (2003) es de  $1,1 \times 10^3$  NMP/g y al comparar con la Figura 4, se observa que a los 21 d los contajes para este microorganismo son mayores a los sugeridos por dicha norma, sin embargo no fue significativo ( $P < 0,05$ ) en la prueba de contrastación de hipótesis, lo que indica que desde el punto de vista microbiológico, en función al contaje de *S. aureus*, el tiempo de duración del queso telita elaborado artesanalmente y partiendo de una carga microbiana para este patógeno de  $10^2$  UFC/g es de 21 d de almacenamiento

**Evaluación sensorial**

En el Cuadro 3 se demuestran los resultados de la evaluación de sabor y acidez del queso telita almacenado por 14 d a temperatura de refrigeración de  $\pm 5$  °C. A los 0 y 7 d de almacenamiento fue significativamente más alta la aceptación que a los 14 d de almacenamiento en el atributo sensorial sabor. Esto probablemente se relaciona a la acidez desarrollada en los quesos, este atributo sensorial presentó el mismo comportamiento al compararlo con el sabor, debido a que la aceptación disminuyó significativamente a los 14 d respecto a los 0 y 7 d de almacenamiento.



**FIGURA 4.** Comportamiento de las bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales y *Staphylococcus aureus* en el queso blanco artesanal tipo telita durante 21 días de almacenamiento a  $\pm 5$  °C.

**CUADRO 3.** Evaluación sensorial de los atributos sabor y acidez en los quesos telitas.

Atributo	Tiempo de almacenamiento (días) <sup>1</sup>		
	0	7	14
Acidez	2 358,4 <sup>a</sup>	1 889,6 <sup>a</sup>	608 <sup>b</sup>
Sabor	2 246,1 <sup>a</sup>	1 752,6 <sup>a</sup>	656 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Representa la suma de rangos en la prueba de Kruskal y Wallis con n= 32 panelistas. Letras diferentes en una misma fila representa diferencias significativa  $P \leq 0,05$  en la prueba de comparación múltiple.

Con base en los resultados del atributo acidez de los quesos que fueron obtenidos de la evaluación sensorial, se señala que desde el punto de vista sensorial los quesos telitas presentan un tiempo de vida útil de hasta 7 d de almacenamiento cuando son refrigerados a  $\pm 5^\circ\text{C}$ .

#### Relación entre las características físico-químicas, microbiológicas y sensoriales

Los quesos almacenados durante 21 d a  $5^\circ\text{C}$  incrementaron su contenido de humedad y acidez con respecto al tiempo, al relacionar este aumento con los encontrados en los contajes microbianos se observa que se desarrollan a pesar de la elevada acidez, este comportamiento se puede explicar por presentar alta humedad al final del período de almacenamiento. Estos hallazgos se observaron en quesos de cabra con alto  $a_w$  (actividad del agua) y alto grado de acidez (Duran *et al.*, 2010). Al referirse estos resultados con el porcentaje de ácido láctico durante el tiempo de almacenamiento, se demuestra que a partir de una acidez de 0,84% (14 d de almacenamiento) o más, el queso se hace intolerable desde el punto de vista sensorial.

#### CONCLUSIONES

- En esta investigación se encontró una elevada variabilidad en los parámetros físicoquímicos y microbiológicos evaluados en los quesos telitas.
- Estos quesos se caracterizaron por ser de consistencia blanda y entre graso y semigraso, lo anterior demuestra la falta de estandarización en los esquemas tecnológicos.
- El alto contaje de bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales y *S. aureus*, puede significar una calidad deficiente en la materia prima o carencia de un

programa de higienización y limpieza de los equipos, deficiente manipulación y falta de buenas prácticas de higiene en los operarios, que pudieran constituir un peligro potencial para salud de los consumidores.

- Se demostró que si la población de *S. aureus* al inicio del período de almacenamiento es alrededor de  $10^2$  UFC/g en quesos almacenados a  $5^\circ\text{C}$ , desde el punto de vista microbiológico (en función del contaje de *Staphylococcus*) se pueden consumir hasta por un máximo de 21 d de almacenamiento.
- Desde el punto de vista sensorial, solamente es posible su consumo hasta los 7 d por la alta acidez desarrollada.
- Para incrementar el tiempo de duración y mejorar considerablemente la inocuidad de este queso se recomienda la aplicación de las buenas prácticas de fabricación en las unidades de producción.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Adams, R. y M. Moss. 1997. Microbiología de los alimentos. Editorial Zaragoza (España). Editorial Acribia 464 p.
- Aguilar, B., Montero, M., De la Cruz, J., R. Josue. 2006. Uso del suero fermentado para reducir el tiempo de acidificación del queso Oaxaca. *Agrociencia* 40(5):569-575.
- Braverman, J. 1998. Introducción a la Bioquímica de los Alimentos. 2da Edición. Barcelona. Omega 355 p.
- Bazaes, M. 2004. Características de calidad química y sensorial de queso Gouda. Trabajo de Grado. Licenciado en Ingeniería en Alimentos. Valdivia, Chile, Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias 95 p.
- Cava, R., E. Sangronis., E. Lucci., y L. Woyzechowsky. 2006. Efecto de la adición de nisina en queso fresco "telita" sobre la supervivencia de *Staphylococcus aureus*. *An Venez Nutr.* 19(2):1-8.
- COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. (COVENIN). 1981. Norma venezolana COVENIN: 1814-81. Queso. Determinación de grasa. Fondonorma, Caracas, Venezuela 8 p.

- COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. (COVENIN). 1982. Norma venezolana COVENIN: 1315-82. Alimentos. Determinación de pH. (Acidez iónica). Fondonorma, Caracas, Venezuela 5 p.
- COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. (COVENIN). 1986. Norma venezolana COVENIN: 369-86. Leche y sus derivados. Determinación de Cloruros. Fondonorma, Caracas, Venezuela 17 p.
- COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. (COVENIN). 1987. Norma venezolana COVENIN: 902-87. Alimentos. Método para Recuento de Colonias de Bacterias Aerobias en Placas de Petri. Fondonorma, Caracas, Venezuela 4 p.
- COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. (COVENIN). 1989. Norma venezolana COVENIN: 1126-89. Alimentos. Identificación y Preparación de Muestras para Análisis Microbiológico. Fondonorma, Caracas, Venezuela 7 p.
- COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. (COVENIN). 1989. Norma venezolana COVENIN: 1292-89. Aislamiento y Recuento de *Staphylococcus aureus*. Fondonorma, Caracas, Venezuela 13 p.
- COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. (COVENIN). 1996. Norma venezolana COVENIN: 1104-96. Determinación del número más probable de Coliformes, Coliformes fecales y de *Escherichia coli*. Fondonorma, Caracas, Venezuela 12 p.
- COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. (COVENIN). 1997. Norma venezolana COVENIN: 370-97. Leche y sus derivados. Determinación de Proteína. Método Kjeldahl. Fondonorma, Caracas, Venezuela 6 p.
- COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. (COVENIN). 1997. Norma venezolana COVENIN: 658-97. Leche y sus derivados. Determinación de Acidez titulable. Fondonorma, Caracas, Venezuela 5 p.
- COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. (COVENIN). 1997. Norma venezolana COVENIN: 1077-97. Leche y sus derivados. Determinación de Humedad. 2da Rev. Fondonorma, Caracas, Venezuela 5 p.
- COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. (COVENIN). 2000. Norma venezolana COVENIN: 1813-2000. Norma general de quesos. Fondonorma, Caracas, Venezuela 5 p.
- COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. (COVENIN). 2003. Norma venezolana COVENIN: 3822-2003. Norma general de quesos de pasta hilada. Fondonorma, Caracas, Venezuela 6 p.
- Delbes, C., J. Alomar, N. Chougui, J. Marting and M. C. Ontel. 2006. *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production during the manufacture of uncooked, semihard cheese from cow milk. *J. Food Prot.* 69:2 161-2 167.
- Dindes, M., P. Orwin and R. Schliever. 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Rev.* 13(8):16-34.
- Duran, L., C. Sánchez, J. Palmero, L. Chaparro, T. Garcia y E. Sánchez. 2010. Caracterización físico-química y microbiológica de quesos de cabra en Carora, estado Lara, Venezuela. *Zootecnia Trop.* 28(4):467-475.
- FEGAVEN. 2012. Federación Bolivariana de Ganaderos y Agricultores de Venezuela 24., [En línea]. [Consultado: 24 de Enero 2013]. Disponible en: <http://www.minci.gob.ve/2012/10/22/produccion-de-leche-aumento-91-en-13-anos/>.
- Figueroa, G., P. Navarrete, M. Caro, M. Troncoso and G. Faúndez. 2002. Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigenico en manipuladores de alimentos. *Rev. Méd. Chile* 130(8):59-64.
- Grant, R., H. Ball and M. Rowe. 1996. Thermal inactivation of several *Mycobacterium* spp. **In:** Milk by pasteurization. *Letters in applied Microbiology* 22:253-256.
- Jablonski, L. and M. Bohach. 2001. *Staphylococcus aureus*. **In:** Doyle, M.P., Beuchat L. R. and Montville, T. J. (eds): *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. ASM Press, Washington 411-434 pp.
- Jana, A. and P. Mandal. 2011. Manufacturing and Quality of Mozzarella Cheese: A review. *International Journal of Dairy Science* 6(4):199-226.

- Kosikowski, F. 1957. Processed Mozzarella Cheese. Milk Product J. 48:10-11.
- Lima, A. 2005. *Staphylococcus coagulase*-positiva e enterotoxina em queijo de coalho. Disertacao (Maestrado em Tecnología de Alimentos). Faculdade Engenharia de Alimentos, Universidad Federal do Ceará 86 p.
- Márquez, J. y C. García. 2007. Microflora patógena del queso blanco “telita” elaborado en cuatro estados de Venezuela. An Venez Nutr. 20(1):17-21.
- Mohamed, B., F. Najaf, A. Avianfar and H. Ghoddosi. 2006. Study on physico-chemical, rheological and sensory properties of Mozzarella cheese made by direct acidification. American-Eurasian J. Agric & Environ. Sci. 1(3):268-272.
- Perrone, C. 2006. Novas tecnologías para a fabricacao de queijos. Capitulo 4. **In:** De Fora, J. Tendências e avanços do agronegocios do leite nas Américas: Industrialização. Editorial EMBRAPA. Brasil 45-80 pp.
- Prescott, L., J. Harley and D. Klein. 2003. Microbiología. 4ta Edición. Madrid, España. Editorial Mc Graw Hill. 1 005 p.
- Rowe, M. and J. Donaghy. 2008. *Mycobacterium bovis*: the importance of milk and dairy products as a cause of human tuberculosis in the UK. A Review of taxonomy and culture methods, with particular reference to artisanal cheeses. International Journal of Dairy Technology 61(4):317-326.
- Sangronis, E. y J. García. 2007. Efecto de la adición de nisina en los parámetros físicos, químicos y sensoriales del queso “Telita”. An Venez Nutr. 20(1):12-16.
- Statgraphics. 1992. Statgraphics plus for Windows, version 5.1. Statistical Graphics Crop., Rockville, M.D.

## CARACTERIZACIÓN ISOENZIMÁTICA DE AISLADOS DE *Trichoderma* spp.

### ISOENZYMATIC CHARACTERIZATION OF ISOLATED FROM *Trichoderma* spp.

Luis A. Salazar\*, Glenda Y. Aponte\*, Nelly H. Sanabria\*\*, Efraín Salazar\* y Luis Castro\*\*\*

\*Investigadores y \*\*\*TAI, respectivamente. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA).  
Unidad de Protección Vegetal. Laboratorio de Bacteriología, Micología y Biotecnología Agrícola.

\*\*Profesora. Universidad Central de Venezuela (UCV). Facultad de Agronomía.  
Instituto de Botánica Agrícola. Apdo. 4579. Maracay, estado Aragua. Venezuela.

Correo electrónico: luisagronomia@gmail.com; gaponteve@gmail.com; salabrian@cantv.net; efra63@gmail.com

#### RESUMEN

Recientemente se ha demostrado que las técnicas isoenzimáticas son de gran apoyo a los criterios morfológicos tradicionales para la clara delimitación dentro y entre especies, así como la relación que existe en las pruebas patogénicas y electroforéticas de los microorganismos. La investigación tuvo como objetivo implementar el uso de técnica de isoenzimas para caracterizar la variabilidad genética de aislados de *Trichoderma* spp. Se emplearon diez aislados del género *Trichoderma*, entre ellos: *T. harzianum*, *T. koningiopsi*, *T. longibrachiatum* y *T. atroviride* provenientes del sur en el estado Aragua y al norte en el estado Guárico. Se evaluaron doce sistemas isoenzimáticos: alfa y beta esterasa, alcohol deshidrogenada, malato deshidrogenada, fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida, peroxidasa, glutamato oxalacetato transaminasa, isocitrato deshidrogenasa, enzima málica, glucofosfo isomerasa, glutamato deshidrogenasa. Asimismo, se realizó un cluster utilizando métricamente la distancia de similitud de Jaccard, los datos se analizaron aplicando el programa Past®, Versión 1.55. Según los patrones electroforéticos para isoenzimas existe variabilidad en los aislados debido a la formación de cuatro grupos que corresponden a las localidades de colectas y no a las especies de *Trichoderma* evaluados. El análisis de agrupamiento (cluster) reveló la formación de aislados en cuatro grupos: I y II procedente del estado Aragua; el III proveniente de zonas de producción de los estados Guárico y Aragua; el IV originario del estado Guárico.

**Palabras Clave:** electroforesis; isoenzimas; variabilidad genética.

#### SUMMARY

Recently it has been shown that the techniques are highly isozyme support traditional morphological criteria clearly delineated within and between species, as well as the relationship between pathogenic and electrophoretic tests among these microorganisms. The research aimed to implement the use of isozyme technique to characterize the genetic variability of isolates of *Trichoderma* spp. Were used *Trichoderma* isolates including: *T. harzianum*, *T. koningiopsi*, *T. longibrachiatum* and *T. atroviride* from southern Aragua State and northern Guárico State. Isozyme twelve systems were evaluated: alpha and beta esterase, alcohol dehydrogenase, malate dehydrogenase, alkaline phosphatase, acid phosphatase, peroxidase, glutamate oxaloacetate transaminase, isocitrate dehydrogenase, malic enzyme, glucofosfo isomerase, glutamate dehydrogenase. Cluster was performed using as a metric distance (the distance of Jaccard similarity), the data is analyzed using Past® Version 1.55. According to the isoenzyme electrophoretic patterns there is variability in the isolates, this due to the formation of four groups corresponding to the locations of collections and not evaluated *Trichoderma* species. Cluster analysis (cluster) revealed the formation of 4 groups. I and II, formed by isolates from of Aragua State. The III, composed of the isolated from production areas Guárico and Aragua States, consisting of Group IV isolates from Guárico State.

**Key Words:** electrophoresis; genetic variability; isoenzyme.

## INTRODUCCIÓN

La clasificación de los hongos está basada principalmente en las características morfológicas relacionadas con hifas vegetativas, estructuras de reproducción asexual y sexual, color, forma y septación de las esporas. El uso de caracteres morfológicos para clasificar hongos a nivel de especie es tradicional y vigorosamente definido (Sanabria, 1998). Sin embargo, la técnica isoenzimática provee un medio bioquímico aceptable para distinguir especies de *Aspergillus* (Nealson y Garben, 1967; *Peronosclerospora* (Micales *et al.*, 1988); *Colletotrichum* (Gantoti y Davis, 1993), entre otros. Estos autores señalan que el análisis de isoenzimas representa una herramienta útil para el estudio de la variabilidad genética intraespecífica de los hongos fitopatógenos.

En Venezuela se realizaron estudios electroforéticos que permitió establecer diferencias y semejanzas entre las especies por *Fusarium oxysporum* y *F. verticillioides* (Sanabria 1998; García 2011). Asimismo, se logró identificar la raza dos por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* presente en siembras de tomate en zonas de producción de los estados Aragua y Guárico (norte), presentando variabilidad interna (Lugo, 1998).

Recientemente, varios investigadores demostraron que las técnicas isoenzimáticas son de gran apoyo a los criterios morfológicos tradicionales para la clara delimitación dentro y entre especies, así como la relación que existe en las pruebas patogénicas y electroforéticas de estos microorganismos (Magnano *et al.*, 1995).

Las cepas de *Trichoderma* se diferencian entre sí por los niveles de expresión de las enzimas hidrolíticas, lo cual determina sus características antagónicas. *Trichoderma* puede parasitar la hifa del hongo fitopatógeno mediante enrollamientos, ganchos y cuerpos de tipo apresorios que penetrando la pared celular por la acción hidrolítica de las enzimas quitinasas y glucanasas. Ésto es posible porque la pared celular de los hongos fitopatógenos como *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* y *Pythium* spp., está compuesta principalmente por  $\beta$ -1.3-glucanos y quitina, con celulosa encontrada en los *Oomycetes*, como *Pythium* spp. (González, 2012).

En esta investigación se implementó el uso de la técnica de isoenzimas para caracterizar la diversidad genética de aislados de *Trichoderma* spp., así como evaluar su efectividad en el control de la fusariosis del tomate y el grado de agresividad que presenten en cada una de estas pruebas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los análisis isoenzimáticos se llevaron a cabo en la Unidad del Biotecnología del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA – CENIAP) en Maracay.

### Aislamiento e identificación de *Trichoderma* spp.

Los aislados de *Trichoderma* spp. utilizados en todas las pruebas fueron obtenidos en zonas de producción de cultivos de tomate, sorgo y cebolla del sur del estado Aragua y al norte del estado Guárico. Se colectó 1 kg de suelo aproximadamente, cerca de la rizosfera de estas plantas, donde el mismo estuvo en condiciones de humedad a capacidad de campo.

En el Cuadro 1 se muestra el tipo de cultivo presente en el lugar y las localidades donde se colectaron las muestras de suelo que posteriormente son procesadas para aislar *Trichoderma* spp. De los aislados obtenidos, ocho se colectaron durante esta investigación y dos corresponden a los productos ofrecidos por casas comerciales para el control biológico de enfermedades en plantas.

**CUADRO 1.** Procedencia de los aislamientos de *Trichoderma* spp.

Aislamiento	Cultivo presente	Procedencia
A1	Tomate	El Sombrero, estado Guárico
B2	Prod. comercial	El Sombrero, estado Guárico
C3	Prod. comercial	Desconocida
D4	Tomate	El Sombrero, estado Guárico
E5	Tomate	El Sombrero, estado Guárico
F6	Sorgo	Palo Negro, estado Aragua
G7	Tomate	El Pao, estado Aragua
H8	Cebolla	Palo Negro, estado Aragua
I9	Sorgo	Palo Negro, estado Aragua
J10	Tomate	Camatagüa, estado Aragua

### Procesamiento de las muestras de suelos para aislar *Trichoderma* spp.

Seguidamente de la colecta bajo condiciones de laboratorio se tomaron 10 g de suelo de cada uno de los sitios colectados y se le agregaron 90 ml de agua destilada estéril (ADE) contenidos en una erlenmeyer, siendo ésta la solución madre.

Luego se realizaron diluciones en tubos de ensayo con 9 ml de ADE, a las cuales se le agregaron 1 ml de la solución madre para obtener diluciones de  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ ; de cada dilución se colocó 1 ml en platos de Petri de 100 x 15 mm de dimensión.

Por último, se les agregó 15 ml de medio de cultivo de papa dextrosa agar (PDA), se extendió cada una de las diluciones en el plato correspondiente, realizando por cada dilución cuatro réplicas, estas se colocaron a incubar a 28 °C, por un lapso de 24 a 48 h, tomándose parte del crecimiento del hongo y se sembró en cultivos unicelulares para la obtención del cultivo puro y a partir de allí replicar.

Los aislados comerciales estaban en presentación sólida (liofilizado), se multiplicaron en medio de cultivo PDA y se incubaron a la misma temperatura que los aislados colectados, con la finalidad de obtener la colonia del hongo para las posteriores pruebas.

#### **Identificación de las especies de *Trichoderma* utilizadas**

Una vez alcanzados los aislados puros, se procedió a su identificación taxonómica a nivel de especie, considerando las características fundamentales descritas por Rifai (1969) y Bisett (1991 a, b, y c).

#### **Extracción de proteínas**

La preparación del tejido y la extracción de proteínas se hizo mediante una modificación de los protocolos descritos por Bonde *et al.* (1991), Marlatt *et al.* (1996) y Sanabria, 1998.

Se utilizaron colonias puras de cada uno de los aislados cultivados durante 7 d en medio de cultivo PDA. A partir de éstas, se trasladaron tres secciones tomadas con la punta de una micropipeta de cada colonia en ocho frascos que contenían 50 ml de un medio de cultivo líquido de caldo papa – dextrosa y se colocaron por 4 d en agitación continua a temperatura entre 26 y 28 °C. El micelio formado se destiló al vacío en un papel de filtro Watman N° 1, se hizo un lavado con ADE secándolo con papel de filtro y se colocó en congelación.

Para obtener el extracto proteico, el micelio congelado fue macerado en un mortero adicionándole tampón de extracción Tris – Glicina a pH 8,3 en una proporción de 3:1 (g de micelio/ml de buffer). El macerado se realizó en morteros fríos colocados en una cama de hielo.

Una vez obtenido el extracto, se centrifugó la suspensión a 18 000 rpm por 10 min en una centrifuga Sorvall rotor SS-34. Luego se colectó el sobrenadante y se mantuvo en congelación hasta el momento de realizar la corrida electroforética.

#### **Preparación de las muestras**

Para la separación electroforética las muestras se prepararon adicionando 120 µl del extracto (sobrenadante), 5 µl de azul de bromofenol al 1% y 50 µl de glicerol al 85%.

#### **Preparación del gel**

Los geles se elaboraron de acuerdo a una modificación de los métodos descritos por (Marlatt *et al.*, 1996). La separación electroforética se realizó en una cámara Sigma minidual vertical, se empleó un sistema discontinuo de geles de poliacrilamida con un gel concentrador al 5% y un gel separador al 10%, de 1 mm de espesor cada uno.

Una vez polimerizados los geles, se colocaron en la cubeta de la cámara electroforética y se le adicionó el buffer Tris – Glicina, a pH 8,3 como buffer de corrida añadiendo por carril 10 µl de cada una de las muestras.

#### **Electroforesis y visualización enzimática**

La separación electroforética se realizó a un voltaje constante de 100 V y 80 mA de corriente a 4 °C durante 3 h. Las bandas de las isoenzimas se visualizaron sumergiendo los geles en una solución de tinción específica para cada sistema de isoenzimas, evaluando 12 isoenzimas (Cuadro 2). La tinción se realizó en oscuridad y posteriormente el gel se lavó con ADE y se procedió a interpretar los zigmogramas.

#### **Interpretación de los geles**

El registro de las bandas fue de naturaleza cualitativa, registradas en un código binario (bandas: 0 ausente y 1 presente). Esta información se adquirió para cada banda del sistema enzimático de los aislados. A partir de esta información se generó una matriz binaria que permitió establecer los patrones electroforéticos para cada aislamiento. Las corridas de los aislados se realizaron por duplicado. El análisis de agrupamiento (cluster) se utilizó como distancia métrica para la similaridad de Jaccard y los datos se analizaron utilizando el programa Past®, Versión 1.55.

**CUADRO 2.** Isoenzimas evaluadas y la constitución de las soluciones para cada sistema isoenzimático.

Isoenzima	Nomenclatura Universal de las enzimas	Constitución
$\alpha$ -esterasa, ( $\alpha$ -EST)	EC 3.1.1.1.1	50 ml buffer fosfato pH 6.3, 25 mg fast blue RR y 25 mg $\alpha$ -naphthyl acetate.
$\beta$ -esterasa ( $\beta$ -EST)	EC 3.1.1.1.2	50 ml buffer fosfato pH 6.3, 25 mg fast blue RR y 25 mg $\beta$ -naphthyl acetate.
Alcohol Deshidrogenasa (ADH)	EC 1.1.1.1	50 ml buffer Tris HCl, 0,1 M pH 7,5; 15 mg NAD <sup>+</sup> ; 2 mg PMS; 10 mg MTT y 3 ml de etanol.
Malato Deshidrogenasa (MDH)	EC 1.1.1.37	50 ml buffer Tris 0,1 M pH 7,5; 1,5 ml DL-malato 1 M pH 7,5; 15 mg NAD <sup>+</sup> ; 2 mg PMS y 10 mg MTT
Fosfatasa ácida (ACP)	EC 3.1.3.2.	50 ml buffer acetato 50 mM pH 5,5; $\beta$ – ácido naftilfosfato de sodio 1% en acetona 50%; 0,5 ml MgCl <sub>2</sub> 1 M y 50 mg fast garnet GBC sal.
Fosfatasa alcalina (ALP)	EC 3.1.3.1	50 ml buffer Tris 50 mM pH 8,5; 0,5 ml Mg Cl <sub>2</sub> 1 M; 0,5 ml MnCl <sub>2</sub> 1 M; 50 mg fast blue RR sal y 1,5 ml
Peroxidasa (PRX)	1.11.1.7	$\alpha$ – naftilfosfato de sodio 1% en acetona al 50%. 35 ml buffer NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 1 M, 25 g O-Dianisidina, 75 $\mu$ l (solución al 30 %) de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> y 15 ml de metanol.
Glutamato oxalacetato transaminasa (GOT)		50 ml de solución sustrato para GOT y 50 mg de Fast blue RR sal.
Isocitrato deshidrogenasa (IDH)	1.1.1.42	50 ml buffer Tris 0,1 pH 8, 2 ml MgCl <sub>2</sub> (10%), 150 mg ácido isocítrico, 1 ml MTT, 100 $\mu$ l NADP y 100 $\mu$ l de PMS.
Enzima málica (ME)	1.1.1.40	50 ml buffer Tris 0,1 pH 8, 1 ml MTT, 40 $\mu$ l NADP, 300 $\mu$ l de PMS, 350 mg ácido L-málico y 2 ml de MgCl <sub>2</sub> (10 %).
Glucofosfo isomerasa (GPI)	5.3.1.9	50 ml buffer Tris 0,1 pH 8, 1 ml MTT, 1 ml NAD, 400 $\mu$ l PMS y 30 mg fructose 6-fosfato.
Glutamato deshidrogenasa (GDH)	1.4.1.3	50 ml buffer Tris 0,1 pH 8, 1 ml MTT, 1 ml NAD, 300 $\mu$ l PMS, 200 mg ácido L-glutámico y 1 ml de MgCl <sub>2</sub> (10 %).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Identificación de las especies de *Trichoderma* utilizadas

Las características de los aislados correspondieron a la descripción taxonómica dada por Rifai (1969) y Bissett (1991<sup>a</sup>, 1992<sup>b</sup> y 1991<sup>c</sup>), en el Cuadro 3 se muestran cada uno de los aislados identificados a nivel de especie, ubicándolas de la siguiente manera: cuatro se relacionó

a *T. harzianum*, cuatro con *T. koningiopsi*, uno para *T. longibrachiatum* y uno correspondió a *T. atroviride*.

### Caracterización isoenzimática de los aislados de *Trichoderma* spp.

De los 12 sistemas isoenzimáticos evaluados, solo seis indicaron polimorfismos en el revelado de las bandas, siendo éstos  $\alpha$ -esterasa,  $\beta$ -esterasa, malato deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, alcohol deshidrogenasa y fosfatasa ácida.

**CUADRO 3.** Identificación taxonómica de los aislamientos de *Trichoderma* spp.

Nombre del aislado	Sección	Especie <i>Trichoderma</i>
A1	<i>Longibrachiatum</i>	<i>T. longibrachiatum</i>
B2 (Prod. comercial)	<i>Pachybasium</i>	<i>T. harzianum</i>
C3 (Prod. comercial)	<i>Pachybasium</i>	<i>T. harzianum</i>
D4	<i>Trichoderma</i>	<i>T. koningiopsi</i>
E5	<i>Trichoderma</i>	<i>T. koningii</i>
F6	<i>Trichoderma</i>	<i>T. atroviride</i>
G7	<i>Trichoderma</i>	<i>T. koningiopsi</i>
H8	<i>Trichoderma</i>	<i>T. koningiopsi</i>
I9	<i>Pachybasium</i>	<i>T. harzianum</i>
J10	<i>Pachybasium</i>	<i>T. harzianum</i>

El número de bandas en los geles varió según el sistema isoenzimático utilizado, para las  $\alpha$ -esterasas se obtuvieron cinco bandas (Figura 1), para las  $\beta$ -esterasas seis bandas (Figura 2), la malato deshidrogenasa reveló cuatro bandas (Figura 3), la fosfatasa alcalina siete bandas (Figura 4), la alcohol deshidrogenasa tres bandas (Figura 5) y para la fosfatasa ácida cuatro bandas (Figura 6).

Estos resultados concuerdan con los reportados por Grondona *et al.* (1997), quienes realizaron una caracterización isoenzimática a 15 aislados de *T. harzianum*, obteniendo para el caso de la fosfatasa ácida un revelado de seis bandas, cinco para la fosfatasa alcalina, la malato deshidrogenasa reveló 15 bandas.

El sistemas isoenzimático  $\alpha$ -esterasa, reveló al menos una banda para cada aislado, en el caso de las  $\beta$ -esterasas, no se detectó presencia de bandas en A1, G7 y H8. La malato deshidrogenasa no obtuvo actividad enzimática en B2, D4 y G7 y para la fosfatasa alcalina no se detectó actividad en C3 y D4. Grondona *et al.* (1997) señalan que algunos aislados no presentaron actividad enzimática. Estos resultados indican que la técnica isoenzimática pudo identificar todos los aislados evaluados, demostrando que con seis sistemas utilizados para cada aislado se logró un perfil de bandas de isoenzimas característico, lo cual se convierte en su identificación isoenzimática y se presenta en el Cuadro 4.

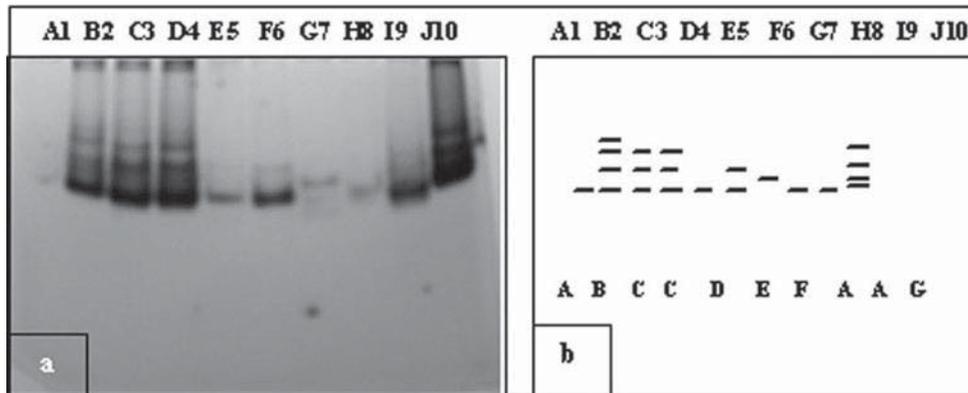
**CUADRO 4.** Patrones electroforéticos de los aislamientos de *Trichoderma* spp., basados en análisis isoenzimáticos.

Isoenzimas	Aislados									
	A1	B2	C3	D4	E5	F6	G7	H8	I9	J10
$\alpha$ -esterasas	A	B	C	C	D	E	F	A	A	G
$\beta$ -esterasas	A	B	B	C	D	D	A	A	D	E
MDH	A	B	C	B	A	D	B	C	E	E
AKP	A	A	B	B	C	D	E	F	B	G
ADH	A	A	A	A	A	B	C	C	D	D
ACP	A	B	B	C	C	D	E	F	G	H

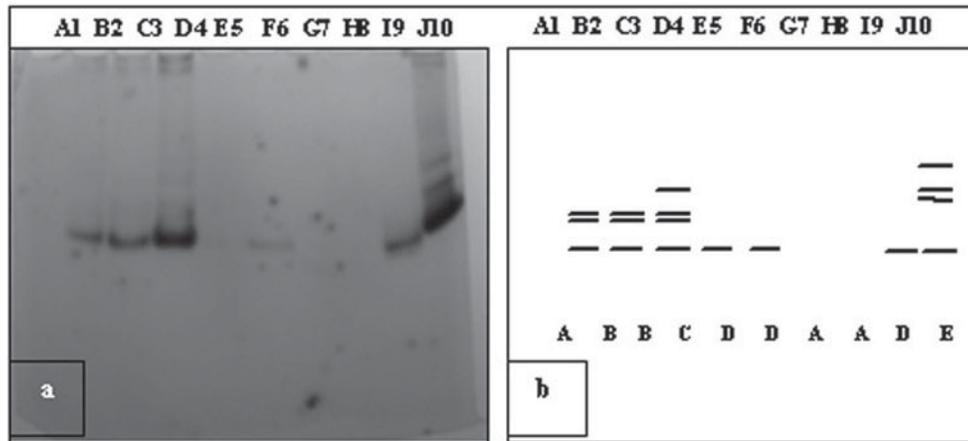
Nota: las letras corresponden a los patrones de bandas obtenidas tal y como se presentan en las Figuras 1 a la 6.

El análisis de agrupamiento (cluster), utilizando como distancia métrica la distancia euclidiana, reveló la formación de cuatro grupos (Figura 7). Grupo I formado por los aislados H8, G7 y J10, procedente del estado Aragua. Grupo II derivado por el I9, estado Aragua. Grupo III conformado por los F6 y E5 exhibieron igual coeficiente de similaridad, siendo estos pertenecientes a las especies *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma koningiopsi*, lo cual significa que estos aislados guardan información común en su constitución genética. Los aislados A1, B2, C3 y D4 pertenecientes al grupo IV provienen de zonas de producción del estado Guárico, a excepción del aislamiento C3, al cual no se le conoció su procedencia. Estos resultados sugieren que la población es genéticamente heterogénea.

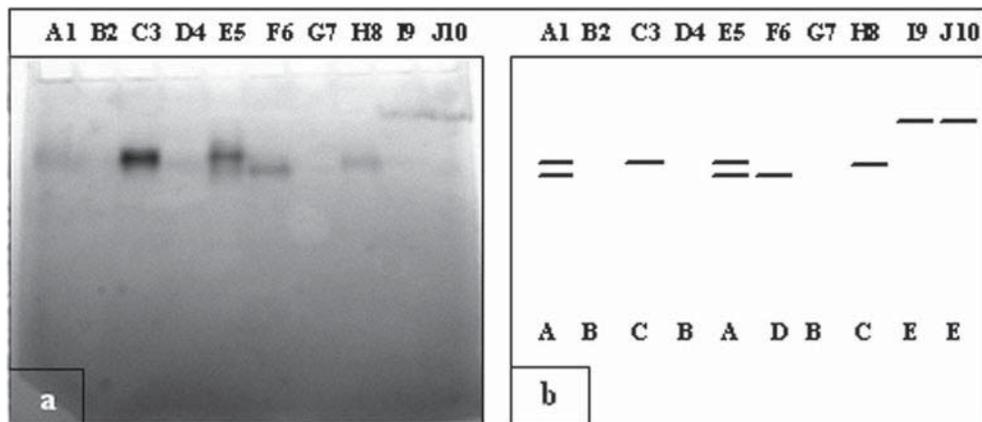
De los resultados mostrados anteriormente, se puede inferir mediante el análisis de los sistemas isoenzimáticos, que los aislados se agrupan según la zona geográfica de donde fueron aislados, y no según la especie taxonómica a la cual pertenecen o al grado de agresividad que puedan tener para controlar un patógeno en particular. Este fenómeno pudiera deberse a lo señalado por Lugo (1998), quien indica que pudieran existir varias causas, por ejemplo, las características morfológicas que están altamente influenciadas por el ambiente, pudiera deberse a que los genes de variabilidad isoenzimática presentan baja correspondencia con la variabilidad de los genes para las características morfológicas.



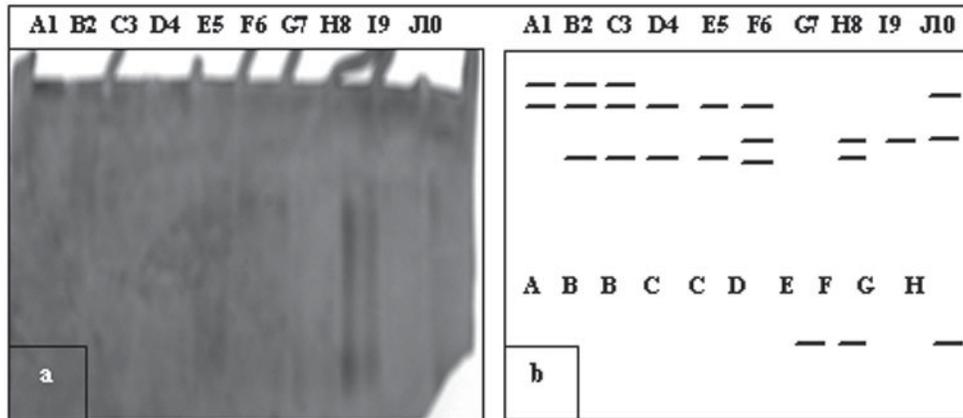
**FIGURA 1.** Bandas de isoenzimas de  $\alpha$  – esterasas ( $\alpha$ -EST) en los 10 aislados de *Trichoderma* spp. (a) fotografía original del gel, b) digitalización del Zimograma.



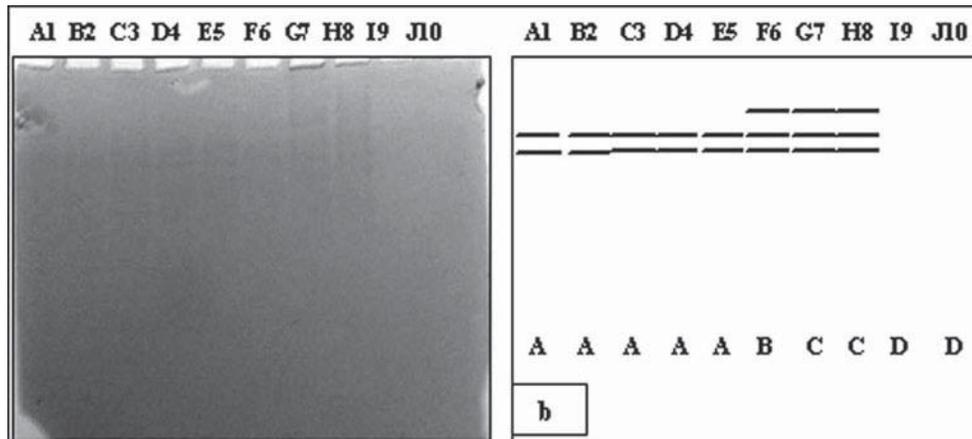
**FIGURA 2.** Bandas de isoenzimas de  $\beta$  – esterasas ( $\beta$ -EST), en los 10 aislados de *Trichoderma* spp. (a) Fotografía original del gel, b) Digitalización del Zimograma.



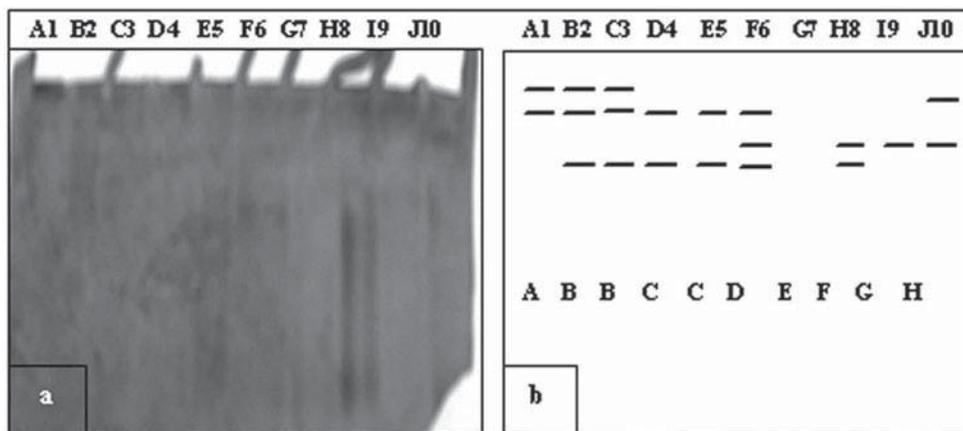
**FIGURA 3.** Bandas de isoenzimas de Malato deshidrogenasa (MDH), en los 10 aislados de *Trichoderma* spp. (a) Fotografía original del gel, b) Digitalización del Zimograma.



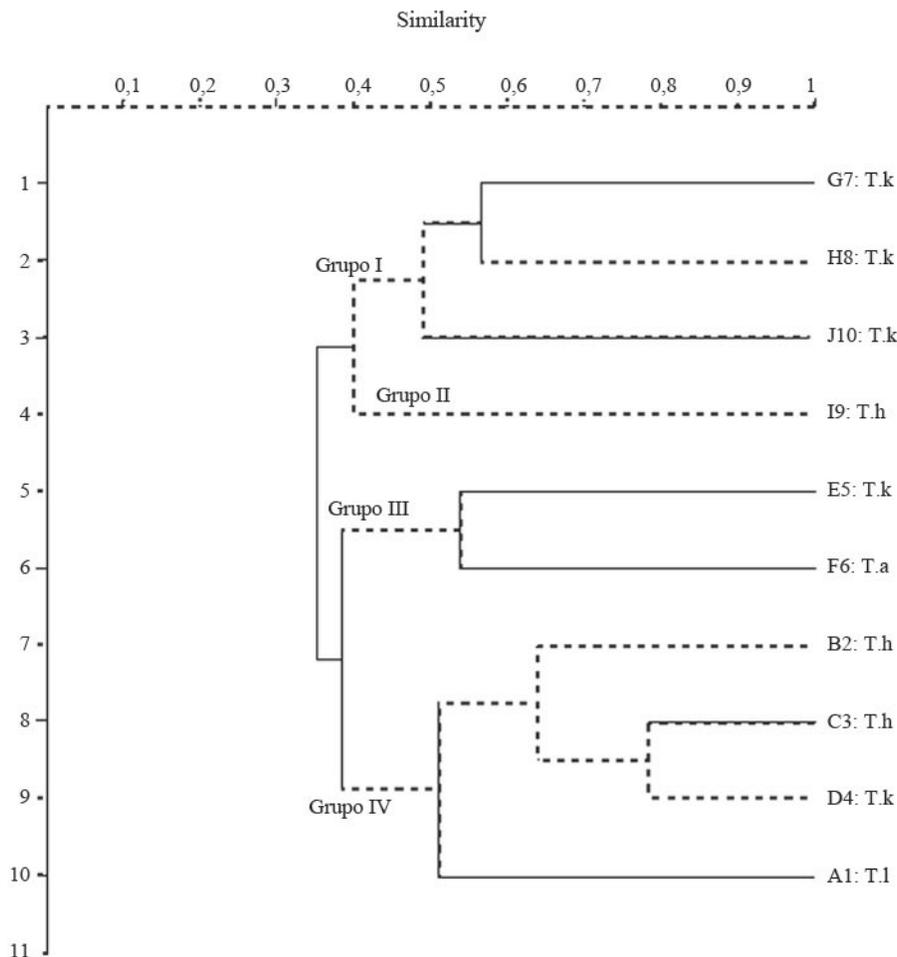
**FIGURA 4.** Bandas de isoenzimas de Fosfatasa Alcalina (AKP), en los 10 aislados de *Trichoderma* spp. (a) Fotografía original del gel, b) Digitalización del Zimograma.



**FIGURA 5.** Bandas de isoenzimas de Alcohol Deshidrogenasa (ADH), en los 10 aislados de *Trichoderma* spp. (a) Fotografía original del gel, b) Digitalización del Zimograma.



**FIGURA 6.** Bandas de isoenzimas de Fosfatasa Ácida (ACP), en los 10 aislados de *Trichoderma* spp. (a) Fotografía original del gel, b) Digitalización del Zimograma.



**FIGURA 7.** Análisis de agrupamiento UPGMA basado en la distancia de similaridad de Jaccard para 10 aislados de *Trichoderma* spp.

Asimismo, Grondona *et al.* (1997) evaluaron 15 aislamientos de *T. harzianum* colectados de diferentes países del continente Europeo, encontraron variabilidad a nivel isoenzimático y molecular y señalan que estas diferencias pudieran deberse al medio ambiente o a las condiciones ecológicas de donde se colectó el aislado.

Hermosa *et al.* (2000) consideran que las condiciones del ambiente son importantes en el momento de seleccionar un biocontrolador, aunado a las evaluaciones taxonómicas, para así, mejorar el aprovechamiento de la especie a utilizar.

También señalan que mediante la secuenciación y amplificación de ADN ribosomal lograron analizar filogenéticamente 33 especies del género *Trichoderma* provenientes de diferentes partes del mundo.

Por su parte, Stasz *et al.* (1989) usaron isoenzimas para evaluar las relaciones morfológicas y filogenéticas entre especies del género *Trichoderma* y *Gliocladium*, encontrando que existe correlación entre ellas, evidenciando un alto número de alelos que pueden ser el resultado de cambios genéticos entre los aislados.

El análisis de isoenzimas fue utilizado para estudiar el efecto que puede generar el ambiente sobre la diversidad genética de una población de hongos, tal es el caso de Micales *et al.* (1988) quienes señalan que mediante análisis de componentes principales y análisis de cluster con isoenzimas en el hongo *Suillus tomentosus* (Kauffman) Singer, Snell and Dick, obtuvieron que el hábitat y la selección del hospedador puede ser el responsable de la variación genética de este hongo en la mayoría de las regiones forestales.

## CONCLUSIÓN

- A través de la técnica isoenzimática se pudo identificar a todos los aislados evaluados, por tanto, con los seis sistemas evaluados que presentaron polimorfismos se obtuvo un perfil de bandas de isoenzimas característico para cada uno, de esta manera este patrón se convierte en la identificación isoenzimática para estos aislados.
- Mediante el análisis de los sistemas isoenzimáticos se reveló un agrupamiento más cercano a la zona geográfica de donde fueron aislados que a la especie taxonómica a la cual pertenecen o al grado de agresividad que puedan tener para controlar un patógeno en particular
- El ambiente juega un papel importante en el comportamiento de los aislados de *Trichoderma*, lo cual nos permite inferir qué especie debemos utilizar en el momento de aplicar en una zona de producción agrícola determinada y de esta forma garantizar el éxito en cuanto al desarrollo y colonización, posteriormente su efecto inhibitorio en los patógenos que deseamos controlar.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bissett, J. 1991a. A revision of the genus *Trichoderma* II. Intrageneric classification. *Canadian Journal of Botany* 69:2.357-2.372.
- Bissett, J. 1991b. A revision of the genus *Trichoderma* III. Section *Pachybasium*. *Canadian Journal of Botany* 69:2.373-2.414.
- Bissett, J. 1991c. A revision of the genus *Trichoderma* IV. Additional notes on section *Longibrachiatum*. *Canadian Journal of Botany* 69:2.418-2.420.
- Bonde, M., G. L. Peterson and J. L. Y. Maas. 1991. Isozyme comparisons for identification of *Colletotrichum* species pathogenic to strawberry. *Phytopathology* 81:1.523-1.528.
- Gantoti, B. and M. Davis. 1993. Pectic zymogram analysis for characterizing genetic diversity of the mango anthracnose pathogen. *Acta Horticulturae* 341:353-359.
- García, J., A. Trigos, L. Andreu, N. Estevez y M. Luna. 2011. Variaciones Isoenzimática y Patogénica de *Fusarium* spp., asociadas con la pudrición de tallo y raíz de vainilla. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 13:299-306.
- González, I., D. Infante, B. Martínez, Y. Arias, N. González, Ll. Miranda y B. Peteira. 2012. Inducción de quitinasas y glucanasas en cepas de *Trichoderma* spp., promisorias como agentes para el control biológico. *Biotecnología Aplicada* 29:7-11.
- Grondona, I., M. R. Hermosa, M. Tejada, M. D. Gomis, P. F. Mateos, P. D. Bridge, E. Monte and I. Garcia-Acha. 1997. Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biological control agent against soilborne fungal plant pathogens. *Applied and Environmental Microbiology* 63:3.189-3.198.
- Hermosa, M. R., I. Grondona, I. A. Iturriaga, J. M. Díaz-Minguez, C. Castro, E. Monte and I. Garcia-Acha. 2000. Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. *Applied and Environmental Microbiology*. American Society for Microbiology 66(5):1 890-1 898.
- Lugo F., Zunilde C. 1998. Identificación de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc) Snyder & Hansen procedentes de algunas zonas productoras del estado Aragua y norte de Guárico. Tesis de Maestría. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Maracay 101 p.
- Magnano, G., F. Scala and Q. Michelli. 1995. Moderne technique diagnostiche in mycologie phytopathology. *Petria* 5:53-90.
- Marlatt, M., J. Correll and P. Kaufman. 1996. Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in the united States. *Plant Disease* 80:1 336-1 342.
- Micales, J. A., R. M. Bonde and G. L. Peterson. 1986. The use of isoenzymes analysis in fungal taxonomy and genetics. *Mycotaxon* 27:405-449.
- Micales, J. A., R. M. Bonde and G. L. Peterson. 1988. Isoenzyme analysis and aminopeptidase activities within the genus *Peronosclerospora*. *Phytopathology* 78:1 396-1 402.
- Nealson, K. and E. Garber. 1967. A electrophoreses survey of esterases, phosphatases and lemineaminopectidasas in micelial extracts of species of *Aspergillus*. *Mycología* 59:330-336.

- Rifai, M. A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. Mycological paper N° 116.
- Sanabria de, A. N. 1998. Serología y electroforesis para identificación de tres especies de *Fusarium*. Tesis de doctorado. Maracay, Ven. Universidad Central de Venezuela 102 p.
- Stasz, Nixon, G. Harman and F. Weeden. 1989. Evaluation of phonetic species and phylogenetic relationships in the genus *Trichoderma* by cladist analysis of isoenzyme polymorphism. *Mycologia* 81:391-403.

## CONTROL DE ARROZ MALEZA

### RICE WEED CONTROL

Aída Ortiz\* y Luis López\*\*

\*Profesora Asociada e \*\*Ingeniero Agrónomo. MSc. Consultor del Proyecto Manejo Integrado de Malezas (MIMA).  
Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía (FAGRO-UCV). Maracay, estado Aragua.  
Correo electrónico: ortiza@agr.ucv.ve - arrozluis@gmail.com

#### RESUMEN

El arroz maleza / rojo (AM) causa un gran daño a la cadena de producción de arroz en la agricultura. Debido a la importancia económica de esta maleza en Venezuela, el objetivo fue evaluar el control del arroz rojo en la finca El Esfuerzo, ubicada en el municipio Ospino, estado Portuguesa. Se seleccionaron dos campos de arroz bajo riego (lote 3 = 5,3 ha y lote 5 = 3,37 ha), altamente infestadas con arroz rojo. Para llevar a cabo esta investigación se establecieron dos experimentos: (1) el control del arroz rojo con tres herbicidas de presembrado: butacloro y oxadiargil se aplicaron en lámina de agua y el glifosato se utilizó en postemergencias en seco en comparación con la preparación del suelo convencional y (2) el control del arroz rojo con glifosato, el encharcamiento del suelo y el Sistema Clearfield (variedad CF-205 + dos herbicidas imidazolinonas: imazapir + imazapic e imazapir + imazetapir). Se utilizó la metodología de grandes parcelas con muestreo en ausencia de repeticiones (Machado, 2000). Los resultados revelaron que los rendimientos del arroz en todos los tratamientos de control de AM en presembrado evaluados (batido, glifosato, butacloro y oxadiargil), fueron 40,31; 30,72; 26,48 y 14,17%, mayores que el testigo con AM, respectivamente. Asimismo, el control del AM con estos tratamientos fue superior al 90% cuando se comparó el número de panículas de AM con las halladas en el testigo. Se reporta más de 99% de control del AM en los tratamientos con 150,06 g.i.a.ha<sup>-1</sup> de imazapir+imazapic e imazapir+imazetapir; dos falsas siembras con aplicaciones de glifosato 85,35% y batido del suelo 39,38%. Los tratamientos con IMI tuvieron 55,22 y 30,77% más rendimiento que el batido y glifosato.

**Palabras Clave:** arroz maleza/rojo; batido del suelo/ arroz; control; herbicidas; *Oryza sativa*.

#### SUMMARY

The weedy/red rice (WR) causes great damage to rice agriculture chain. Due to the economic importance of this weed in Venezuela, with the objective of evaluate the control of red rice, in the El Esfuerzo farm located at municipio Ospino, Portuguesa State, were selected two irrigated rice fields (plot 3 = 5.3 ha and plot 5 = 3.37 ha), highly infested with red rice. To conduct this research, two experiments were established: (1) Red rice control using three preplant herbicides: butachlor, oxadiargyl, they both were applied in sheet of water and glyphosate was applied in post emergent in dry, compared to conventional preparation soil, and (2) Red rice control using glyphosate, soil puddling and the Clearfield System (variety CF-205 + two imidazolinone herbicides: imazapyr + imazapic and imazapyr + imazethapyr). A design of large plots without replications with sampling within each plot (Machado, 2000) was used. The results revealed that the rice yields, in all preplanting treatments sowings for the control of WR: puddling, glyphosate, butachlor and oxadiargyl were 40.31, 30.72, 26.48 and 14.17%, higher than the control with WR, respectively. Similarly, the control of WR with these treatments exceeded 90%, when comparing the content of panicles of WR with those found in the control. Our results show that over 99% control of red rice in the treatments with 150.06 g.i.a.ha<sup>-1</sup> of imazapyr + imazapic and imazapyr + imazethapyr; 85.35% with two false sowings with glyphosate and 39.38% two false sowings with puddling. Imidazolinone treatments had 55, 22 and 31% higher yields than puddling and glyphosate, respectively.

**Key Words:** control; herbicides; *Oryza sativa*; soil smoothie/rice; weedy-red rice; red.

## INTRODUCCIÓN

El arroz maleza/rojo (AM) tiene gran importancia económica en el cultivo del arroz en Venezuela, debido a que causa cuantiosas pérdidas, por cuanto no solamente reduce el rendimiento del arroz paddy sino que también disminuye el precio del arroz, cuando llega al molino en una alta proporción, contamina la producción de semilla bien sea por mezcla física o flujo de polen, por último, las altas infestaciones de esta maleza afectan negativamente el valor de las tierras arroceras.

En el país, el arroz maleza se encuentra distribuido en todas las zonas arroceras de los estados: Guárico, Portuguesa, Barinas y Cojedes (Ortiz y Budowski, 1998). Incluso en áreas recién incorporadas a la producción de arroz, como es el caso del estado Zulia. La infestación del arroz rojo en estos campos es variable, encontrándose desde 1 a 2 000 pl m<sup>-2</sup> (Ortiz *et al.*, 2009; Abreu y Solórzano, 2006).

En Venezuela se conoce el arroz rojo como maleza nociva en el cultivo del arroz, no obstante, la mayoría de los agricultores no la controlan cuando se encuentra en baja incidencia, sino que esperan a que la agroindustria comience a rechazar el arroz cosechado para hacer el manejo adecuado de esta mala hierba (Castillo, 2006), además, esto ocasiona que los campos presenten una alta infestación, por lo tanto, una gran proporción de esta maleza en el banco de semillas del suelo, hace más difícil su control (Ortiz *et al.*, 2009).

El AM se define como un arroz no deseado por los productores, por cuanto la mayoría de sus semillas no son recogidas durante la cosecha del cultivo y está específicamente adaptado al hábitat perturbado por el proceso de producción. La evolución del arroz rojo es común a la del arroz cultivado y silvestre, pero la variación está en la contribución relativa de la presión de selección humana o natural en los diferentes componentes del cultivo. El desgrane de las semillas es la única característica que diferencia al arroz rojo del arroz cultivado (Vaughan *et al.*, 2005). La forma común de denominar al arroz rojo es: *Oryza sativa* spontanea (Ellstrand, 2003; London y Schall, 2008).

El método principal usado en el país de control cultural de arroz maleza, es la implementación del batido del suelo combinado con la presencia de lámina de agua sobre un suelo bien nivelado. Esto permite mantener las condiciones anaeróbicas en las capas superiores del suelo y previene que se establezcan plantas de arroz maleza (Fischer, 1999).

En América Central, la siembra de arroz pregerminado en suelos inundados durante 20 d después del batido, suprime el arroz maleza (Armenta y Coulombe, 1993). La combinación de la siembra en lámina de agua y el uso de semillas libres de semillas de arroz rojo conllevan a la desaparición de esta maleza en los arrozales en California (Fischer, 1999). En condiciones del Delta Ebro en España, el batido del suelo combinado con herbicidas, tales como tiobencarbo y molinato, redujeron la densidad de panículas del arroz rojo y se produjo un control de más de 88% (Català, 1995).

La estrecha similitud genética del arroz cultivado y el arroz maleza hace que el control con herbicidas selectivos en postemergencia sea sumamente difícil (Delouche *et al.*, 2007) y existe poca posibilidad de encontrar agentes biocontroladores de esta mala hierba (Zimdahl, 1999). Las técnicas de manejo más exitosas se basan en la aplicación de herbicidas antes de la siembra del cultivo (Ferrero, 2004).

El control presiembrado del arroz maleza a nivel mundial se realiza con herbicidas tales como: molinato (Kwon *et al.*, 1991), quizalofop-p-etil, glifosato, paraquat y glufosinato de amonio en Louisiana - EE. UU.- (Noldin *et al.*, 1999); dalapon, cicloxydim y clethodim (Ferrero *et al.*, 1999), glifosato y sulfosato en Brasil (Noldin y Cobucci, 1999); glifosato y oxadiazón en Uruguay (Castillo *et al.*, 2004).

Con la introducción de variedades resistentes a herbicidas, el enfoque genético y biotecnológico están siendo adoptados para controlar malezas en postemergencia del arroz (Linscombe *et al.*, 1996; Wheeler *et al.*, 1997).

Esta tecnología es una herramienta poderosa para el manejo de las infestaciones de arroz rojo, pero debe ser usada de acuerdo con los protocolos y recomendaciones que acompañan a dichas tecnologías, además de estar acompañadas de otras estrategias preventivas, culturales, químicas y normativas para manejar esos arrozales, a fin de proporcionar y asegurar un manejo sostenible (Delouche *et al.*, 2007).

Dos razones fundamentales privaron para que el arroz transgénico no se desarrollara tan rápido, como en el maíz, soya y colza. En primer lugar, el arroz es un cultivo secundario para los países que aplicaron la técnica de transgénicos y la segunda razón se fundamenta en que el arroz comparte el nicho ecológico con el arroz rojo y con los silvestres, por lo tanto, podría ocurrir un flujo de genes (Delouche *et al.*, 2007; Ellstrand, 2003).

La resistencia a herbicidas de la familia química imidazolinonas (IMI) comenzó a dar sus frutos a mediados de la década de 1980 cuando se encontraron líneas de arroz resistentes. Estas fueron obtenidas por mejoramiento genético tradicional con el uso de agentes mutagénicos por selección masiva en cultivos de tejidos (Croughan *et al.*, 1984; Croughan *et al.*, 1986; Croughan, 1994). En cambio, la resistencia al glufosinato fue transferida a líneas de arroz por medio de la ingeniería genética (Linscombe *et al.*, 1994; Rathore *et al.*, 1994).

Al final de la década de 1990 se desarrollaron variedades de arroz resistentes a herbicidas de amplio espectro, como el glufosinato de amonio y glifosato (transgénicas) e IMI (mutantes). En el año 2001-2002 las variedades resistentes a IMI (también conocida como arroz CL) fueron introducidas en la zona arroceras del sur de los Estados Unidos bajo el nombre comercial de Clearfield y en el año 2005 las variedades Clearfield cubrían cerca del 27% del área arroceras de Arkansas (Delouche *et al.*, 2007).

El sistema Clearfield es la tecnología ofertada por la empresa BASF en convenio con más de 100 empresas semilleras que combina semillas de una variedad o híbrido resistente, herbicidas IMI (imazapir, imazetapir, imazapic e imazamox) y un programa de custodia (Pazos, 2007; BASF, 2011a). Estos herbicidas se pueden usar en forma preemergente o postemergente para el control eficaz del arroz maleza, esto le confiere una gran ventaja al cultivo (Villa, 2006; BASF, 2011b).

Las limitaciones ambientales y biológicas del uso de variedades resistentes a herbicidas, entre otros aspectos, están asociadas principalmente con el riesgo del flujo de los genes de resistencia, desde los cultivares resistentes al arroz rojo o silvestres del género *Oryza*, hasta el crecimiento de plantas voluntarias de arceces resistentes a la selección natural o forzada de la introgresión, entre el cultivo rojo o el silvestre (Gealy *et al.*, 2000; Shivrain *et al.*, 2004; Rajguru *et al.*, 2005; Valverde, 2007; Shivrain *et al.*, 2007).

En Vietnam se obtuvo un excelente control postemergente del arroz maleza (tres a cuatro hojas) bajo el sistema Clearfield-BASF cuando se aplicaron los herbicidas IMI: imazapic, imazapir, imazapic + imazapir e imazetapir + imazapir (Chin *et al.*, 2007). No obstante, en un experimento en Beaumont Texas, EE. UU., para alcanzar el 95% de control de arroz maleza se usaron dos aplicaciones de imazetapir (70 g i.a. ha<sup>-1</sup>), una en preemergencia y otra en postemergencia, encontrándose que el mejor efecto se logró después de la aspersión del

producto establecido en un período de inundación de al menos 14 d (Ávila *et al.*, 2005).

En las condiciones de la producción de arroz en Crowley, Louisiana EE. UU., con una sola dosis de 140 g i.a. ha<sup>-1</sup> de imazetapir aplicada en postemergencia y manteniéndola por 12 d bajo inundación, en el sistema de agua clara y batido, se obtuvo un control de AM de 88 y 92%, respectivamente, mientras que éste aumentó de 90 a 95%, cuando el herbicida se fraccionó en 70 g i.a. ha<sup>-1</sup> en preemergencia y 70 g i.a. ha<sup>-1</sup> en postemergencia (León *et al.*, 2008).

Al evaluar los escapes de AM del sistema Clearfield en el cultivar Puitá- INTA en Brasil, se encontró que aplicando imazamox cuando se observó el 70% de la excreción de las panículas, a la dosis de 104 g i.a. ha<sup>-1</sup>, se controló mejor el arroz rojo, resultando en un 93% de esterilidad de las panículas (Menezes *et al.*, 2008b).

En Venezuela a pesar de que los productores desean producir arroz sin agroquímicos, particularmente en el control de malezas no se tienen biocontroladores u otras estrategias no químicas que sean amigables con el ambiente para reducir las pérdidas económicas que ocasiona la presencia del AM en el arroz cultivo, por lo tanto se propuso esta investigación con el propósito de evaluar diferentes métodos de control del AM en una finca arroceras del municipio Ospino, estado Portuguesa. Con la finalidad de incrementar el conocimiento técnico en el manejo integrado del arroz rojo y que éste pueda ser transferido a los distintos actores de la cadena agroproductiva del arroz en el país.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Identificados como lote tres y lote cinco se establecieron dos experimentos en la finca arroceras El Esfuerzo, ubicada en el municipio Ospino, estado Portuguesa, en el período comprendido entre el 10 de enero de 2005 y el 28 febrero 2006, donde el AM fue la principal maleza del cultivo.

El suelo está clasificado dentro de la serie Areo (Granados, 1972). El perfil fue descrito como un Typic Ustropepts (González *et al.*, 1977), con una textura franco arcillosa (26% arena, 34% limo y 40% de arcilla) y un pH de 6,40. El pH del agua utilizada para regar y aplicar los herbicidas fue de 5,87. La zona presenta un clima de bosque húmedo tropical, una altitud de 190 m.s.n.m., con una temperatura promedio de 24 °C y una precipitación media anual de 2 100 mm.

### Experimento sobre control de arroz rojo con herbicidas presiembra (PS), establecido en el lote tres durante el ciclo de lluvias 2005

Antes de iniciar el ensayo, el suelo inundado fue batido mediante un pase de rotocultor y rodillo. La siembra del cultivo se realizó el 15 de agosto 2005 con semilla de la variedad ZETA 15, categoría registrada libre de arroz rojo, a la dosis de 116 kg ha<sup>-1</sup>. Las semillas se pregerminaron antes de sembrarlas, dejándolas 24 h en remojo, posteriormente se incubaron por otras 24 h. Después de estas 48 h los cuatro tanques del lote se sembraron al voleo, manualmente.

Por la información preliminar que arrojó el banco de semillas y los estudios fitosociológicos (datos no publicados en este trabajo), se realizaron aplicaciones en las cuatro melgas o tanques del lote tres, en preemergencia, pirazosulfuron a razón de 25 g i.a. ha<sup>-1</sup> y metsulfuron metil a 9 g i.a. ha<sup>-1</sup>, para el control de *Cyperus iria*; *Fimbristylis miliaceae* y de *Ludwigia* sp., respectivamente. El control de *Leptochloa virgata* se realizó con cyhalofop butil éster a razón de 180 g i.a. ha<sup>-1</sup> aplicado en manchoneo (localizado).

En el Cuadro 1 se presentan los diversos métodos de control de AM empleados en el experimento, los herbicidas se aplicaron con una asperjadora acoplada a un tractor, equipada con boquillas TeeJet 8002 (<http://www.rittenhouse.ca/asp/Product.asp?PG=421>) y calibrada a una descarga de 210 l ha<sup>-1</sup>.

La fertilización fue realizada según el análisis de suelo realizado, con los siguientes nutrimentos: 229,53; 56; 123,3; 24; 1 y 0,5 kg ha<sup>-1</sup> de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O, S, Mg y Zn, respectivamente. El manejo del cultivo se realizó siguiendo el mismo patrón utilizado por el productor en la finca.

Se asignó un lote experimental equivalente a un tratamiento dentro de cada melga, con un tamaño aproximado de 700 m<sup>2</sup>, lo cual representó 100 veces el tamaño de la unidad experimental en ensayos intensivos para el cultivo de arroz (Machado, 2000).

De esta forma, cada parcela estuvo constituida por 100 sub-parcelas de 7 m<sup>2</sup>, cada una correspondió a una unidad de muestreo. El tamaño de la muestra para cada variable evaluada se calculó siguiendo la metodología propuesta por Machado (2000).

**CUADRO 1.** Tratamientos aplicados para el control de arroz maleza con herbicidas presiembra en el lote tres de la Finca El Esfuerzo, municipio Ospino, estado Portuguesa. Ciclo de lluvias 2005.

Tratamiento	Área (ha)	Dosis producto comercial l ha <sup>-1</sup>	Dosis ingredientes activo (g i.a. ha <sup>-1</sup> )	Características del tratamiento
Testigo	0,5	-	-	Sin aplicación de herbicidas para el control de AM
Glifosato	1,6	3,75	2 430,00	Presiembra al cultivo (PS), y postemergente al AM (1 macollo) y otras malezas. Se hicieron 3 falsas siembras*.
Batido	1,5	-	-	1 pase de rotocultor + 2 pases de rodillo. Antes de sembrar el cultivo.
Oxadiargil	1,4	1,07	428,57	Herbicida aplicado en la lámina de agua, presiembra al cultivo, y post emergente al AM y otras malezas (altura de planta, aproximadamente 10 cm).
Butacloro	1,06	7,55	4 528,30	Herbicida aplicado en la lámina de agua, presiembra al cultivo, y post emergente al AM y otras malezas (altura de planta, aproximadamente 10 cm).

\*Falsa siembra: Inducir la emergencia de las malezas con el uso del riego en la modalidad de moje. Cuando las malezas obtuvieron una altura de 10 cm o tres a cinco hojas, en el caso del arroz maleza con un macollo, se aplicó el método de control respectivo.

Round Up Spectra®: 540 g l<sup>-1</sup> glifosato. Raft®: 400 g l<sup>-1</sup> oxadiargil. Cruscher®: 600 g l<sup>-1</sup> butacloro.

AM: arroz maleza/rojo

En todos los casos se utilizó una estimación de la varianza poblacional, obtenida a partir de una muestra piloto tomada previamente en cada parcela.

A los datos se les realizó un análisis de la varianza aproximado sin ajuste y la prueba de medias de Tukey al 5%, cuando cumplieron los supuestos estadísticos de homogeneidad de la varianza, aditividad en los componentes del modelo estadístico, normalidad e independencia de los errores.

Las variables evaluadas en los experimentos de control de AM son diferentes a las que usualmente se utilizan en otras malezas, esto se relaciona a que el AM comparte el mismo genoma del arroz cultivado por lo que en las fases juveniles es difícil diferenciarlos a nivel morfológico, por ello las cuantificaciones se hicieron después de la cosecha usando el rendimiento del cultivo y sus componentes de rendimiento.

#### VARIABLES EVALUADAS:

1. Rendimiento del arroz paddy ajustado al 12% de humedad, cosechado en un área de 7 m<sup>2</sup> cuando tuvo aproximadamente 21% de contenido de humedad.
2. Componentes de rendimiento del arroz. En cada unidad de muestreo se estimaron los atributos siguientes:
  - a. Número de panículas de arroz m<sup>-2</sup>, contados en cada tratamiento del área cosechada.

b. Número de granos llenos por panícula. Se seleccionaron 100 panículas al azar, en cada tratamiento, y se contaron los granos a cada una, estimándose el promedio por panícula.

c. Porcentaje de fertilidad. Los granos llenos, determinados en la variable anterior, se relacionaron con el total de granos (llenos + vanos), calculándose el porcentaje de fertilidad.

d. Peso de 1 000 granos. De 100 panículas se contaron 1 000 granos con un contador electrónico, cuatro veces para cada tratamiento y se pesaron en una balanza electrónica.

#### Experimento sobre control de arroz maleza con glifosato, preparación del suelo batido y el sistema Clearfield con dos imidazolinonas, establecido en el lote cinco durante el ciclo norte-verano 2005-2006 (período seco)

Este experimento estuvo constituido por cuatro tratamientos: 1) sistema Clearfield (variedad de arroz CF-205) + imazetapir + imazapic en postemergencia; 2) sistema Clearfield (variedad de arroz CF-205) + imazetapir + imazapir en postemergencia; 3) preparación del suelo en modalidad barro batido y dos falsas siembras, usando la variedad de arroz ZETA 15; 4) Glifosato en presiembra (dos falsas siembras), usando la variedad de arroz ZETA 15 libre de AM (Cuadro 2).

**CUADRO 2.** Tratamientos para el control de arroz rojo con la falsa siembra (herbicida no selectivo en presiembra o batido) y el sistema Clearfield en la Finca El Esfuerzo, municipio Ospino, estado Portuguesa. Ciclo Norte Verano 2005-2006.

Nº	Área (ha)	Tratamiento	Dosis de producto comercial	Dosis de ingrediente activo (g i.a. ha <sup>-1</sup> )	Característica del tratamiento
T1	0,14	Imazapir+imazapic <sup>Φ</sup>	214,37 g ha <sup>-1</sup>	37,51 + 112,54	Aplicación 28 DDS*
T2	0,14	Imazapir +imazetapir <sup>Ψ</sup>	214,37 g ha <sup>-1</sup>	37,51 + 112,54	Aplicación 28 DDS*
T3	0,6	Batido	-	-	Un pase de rotocultor + dos pases de rodillo, antes de sembrar el cultivo. Se hicieron dos falsas siembras.
T4	1,6	Glifosato	3,75 l ha <sup>-1</sup>	2 430,00	Presiembra al cultivo y postemergente al AM (1 macollo) y otras malezas. Se hicieron dos falsas siembras.

\*DDS: Días después de la siembra.

<sup>Φ</sup>Onduty®: 17% imazapir + 52,5% imazapic. <sup>Ψ</sup>Lightning®: 17% imazapir+ 54% imazetapir. Round Up Spectra®: 540 g l<sup>-1</sup> glifosato. A los tratamientos con herbicidas imidazolinonas se les colocó 0,5% v/v de Surfatrón.

Los herbicidas se aplicaron utilizando una asperjadora acoplada a un tractor, calibrada a un volumen de descarga de 210 l ha<sup>-1</sup> y boquillas TeeJeet 8002. El experimento se sembró el 20 de octubre de 2005.

Las semillas se pregerminaron siguiendo el mismo procedimiento descrito para el experimento sobre el control presiembra, y para ambas variedades de arroz la dosis de semilla utilizada fue de 130 kg ha<sup>-1</sup>.

Según el análisis de suelo se realizó un plan de fertilización con los siguientes nutrimentos 171; 48; 115,5; 12; 1 y 0,5 kg ha<sup>-1</sup> de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O, S, Mg y Zn, respectivamente.

El control de otras malezas diferente al arroz maleza se realizó con pendimetalin, fenoxaprop + fenclorazole, bentazon + MCPA, a razón de 1200; 69 + 79; 800 + 120 g i.a. ha<sup>-1</sup>, respectivamente.

Esta investigación se realizó siguiendo la planificación de experimentos en campos comerciales con un arreglo en grandes parcelas sin repeticiones, con muestreo dentro de los cuatro tratamientos (Machado, 2000).

**Las variables evaluadas fueron:** 1) número de macollos de AM al momento de la cosecha; 2) porcentaje de control en referencia al número de macollos de AM en cada tratamiento y el testigo; 3) rendimiento paddy del arroz cultivado ajustado al 12% de contenido de

humedad; 4) componentes de rendimiento del arroz cultivado (número panículas/m<sup>2</sup>, número de granos por panícula, porcentaje de fertilidad de los granos y peso de 1 000 semillas). La metodología utilizada para medir estas variables fue descrita en el primer experimento.

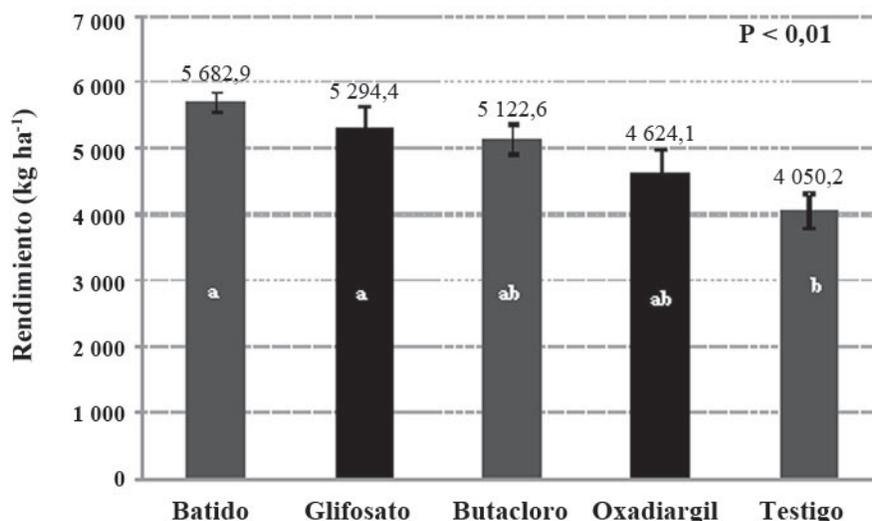
Los datos de las variables evaluadas en este experimento cumplieron con los supuestos estadísticos y se les realizó un análisis de la varianza aproximado sin ajuste, además, los atributos que resultaron significativos se les aplicó la prueba de medias de Tukey al 5%. Se utilizó el programa Statistix 9 para realizar los análisis estadísticos (<http://www.statistix.com/features.html>).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Experimento sobre control de arroz rojo con herbicidas presiembra en el lote tres

En la Figura 1, se observa que los tratamientos mostraron diferencias significativas en la productividad del arroz ( $P < 0,01$ ). La prueba de medias indica que cuando se emplearon el batido del suelo y el glifosato, el rendimiento del cultivo fue superior en 40,31 y 30,72%, respectivamente, en comparación con el testigo.

En el caso de los herbicidas butacloro y oxadiargil, este incremento en rendimiento fue de 26,48 y 14,17%, respectivamente.



**FIGURA 1.** Efecto de los tratamientos de control de arroz maleza/rojo sobre el rendimiento del cultivo de arroz en la finca El Esfuerzo, municipio Ospino, estado Portuguesa. Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%.

Los resultados indican que con los tratamientos realizados hubo control de AM y que los más efectivos fueron: el batido del suelo y el glifosato combinados con la “falsa siembra”. En los tratamientos con butacloro y oxadiargil en lámina de agua, el rendimiento del arroz fue menor, probablemente a consecuencia de que la nivelación del terreno no era homogénea y estos herbicidas pudieron quedar diluidos en el sobrenadante de agua, causando mortalidad de las plántulas de arroz, esto podría haber afectado su establecimiento en campo, de esta manera el AM fue eliminado de estas parcelas.

Aún cuando no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos, se podría decir que el número de panículas del AM en el testigo fue mayor que en los tratamientos glifosato y batido, entre 10 y 20 veces más, respectivamente.

En los tratamientos con oxadiargil y butacloro no se detectó AM (Figura 2). La poca cantidad de panículas de AM (oscilaron entre 4 a 72 panículas m<sup>-2</sup>) encontradas durante la cosecha en el lote donde se estableció el experimento podría indicar que se estaba iniciando la contaminación con AM.

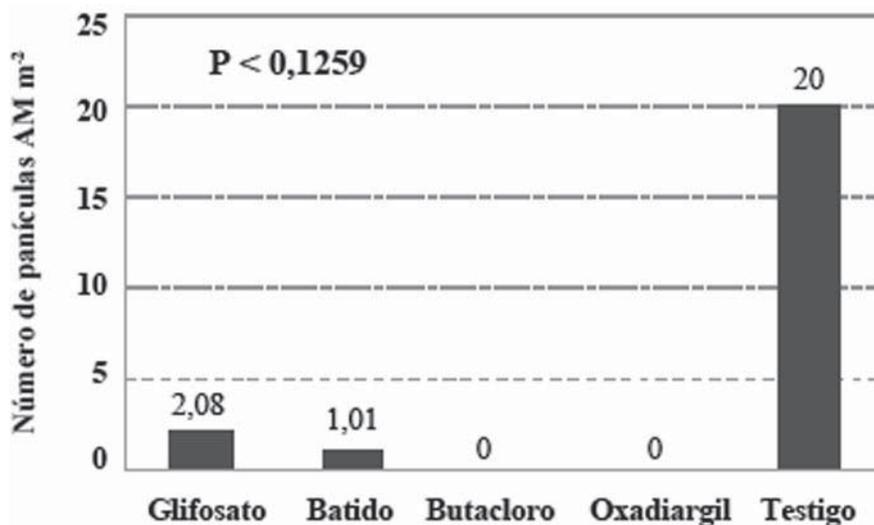
Otros autores encontraron que el uso de la “falsa siembra” más el herbicida Dalapon, produjo un 95% de control de AM, mientras que con batido se logró un 85%, es decir, la aplicación de herbicidas antes de sembrar el cultivo simulando la siembra, fue más eficaz que el batido del suelo solamente (Ferrero, 2001).

La tendencia de los rendimientos paddy se demuestra en la Figura 1, donde se destacan los tratamientos: batido y glifosato, se explica claramente con los resultados gráficos de los componentes del rendimiento de la variedad de arroz ZETA 15 en la Figura 3. Allí se observa que con los tratamientos: batido y glifosato, el número de panículas m<sup>-2</sup> fue 59,93 y 45,79% mayor que en el testigo.

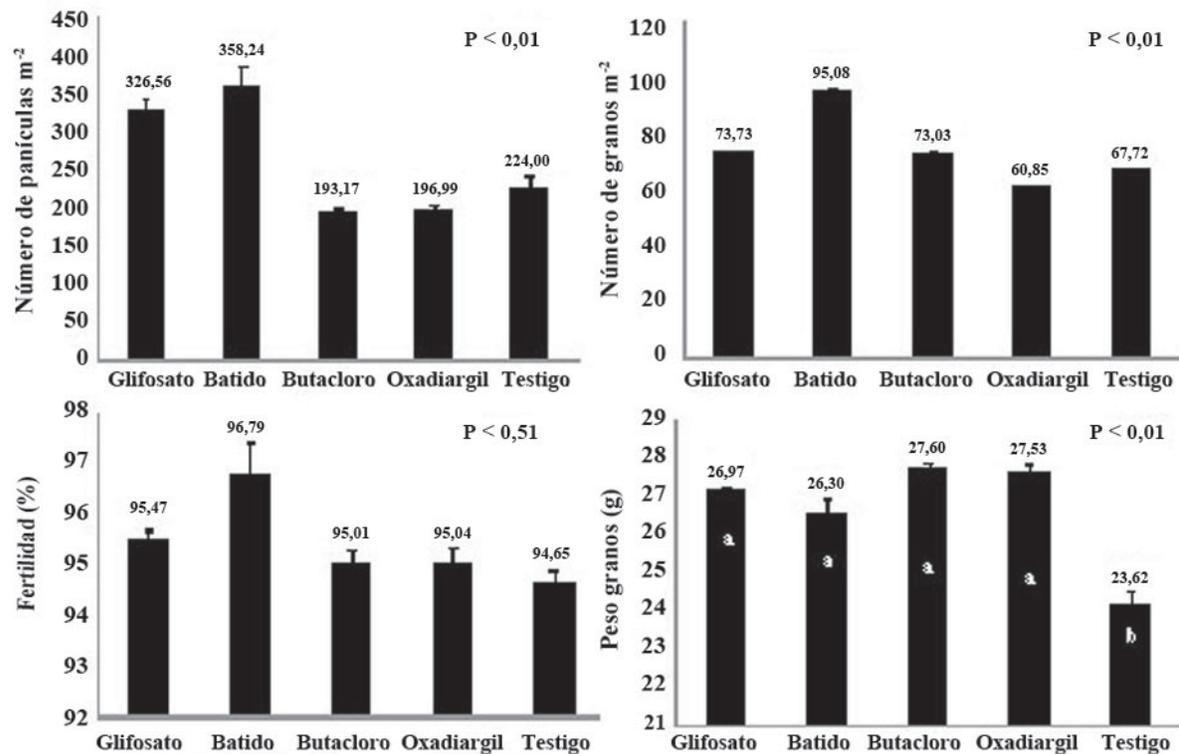
De la misma manera, en el tratamiento batido del suelo, esta variedad tuvo mayor número de granos por panícula, mientras que oxadiargil y el testigo los menores valores.

En los tratamientos: butacloro y oxadiargil, el número de panículas m<sup>-2</sup> fue similar al testigo. La fertilidad de las panículas no reveló diferencias estadísticas entre los tratamientos. No obstante, en el peso de 1 000 granos se observó que todos los tratamientos de control de AM mostraron mayores pesos que el testigo, sobresaliendo los tratamientos oxadiargil y butacloro.

Tal como se explicó anteriormente, en los tratamientos oxadiargil y butacloro en el que se aplicaron estos herbicidas en lámina de agua, se produjo una gran reducción en el número de panículas m<sup>-2</sup> con respecto a los tratamientos batido y glifosato, debido probablemente a la mortalidad de las plántulas disminuyendo el establecimiento de plantas. Estas pocas panículas, con menor competencia de AM pudieron producir granos más pesados, lo que explicaría el mayor peso alcanzado por el arroz en estos tratamientos comparados con el testigo.



**FIGURA 2.** Efecto de los de los tratamientos de control de arroz rojo sobre el número de panículas m<sup>-2</sup> de arroz maleza/rojo, en el lote tres de la finca El Esfuerzo, municipio Ospino, estado Portuguesa. No se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos.



**FIGURA 3.** Efecto de los tratamientos de control de arroz rojo sobre el número de panículas m<sup>2</sup>, número de granos por panícula, fertilidad (%) y peso de 1 000 granos del cultivo de arroz en la finca El Esfuerzo, municipio Ospino, estado Portuguesa. Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%. En la fertilidad de las panículas no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos.

El control obtenido con la aplicación en presiembra de los herbicidas glifosato, butacloro y oxadiargil, y con el batido del suelo, se considera aceptable para reducir la incidencia de AM, además, se encuentra entre los estándares, observados y recomendados de otros estudios (Ferrero *et al.*, 1999; JIRCAS, 1995).

Estos deben estar integrados con prácticas de prevención, como son el uso de semilla certificada libre de arroz rojo, la erradicación manual cuando hay baja densidad de la maleza y el manejo adecuado de la lámina de agua, entre otros (Ortiz, 2005a).

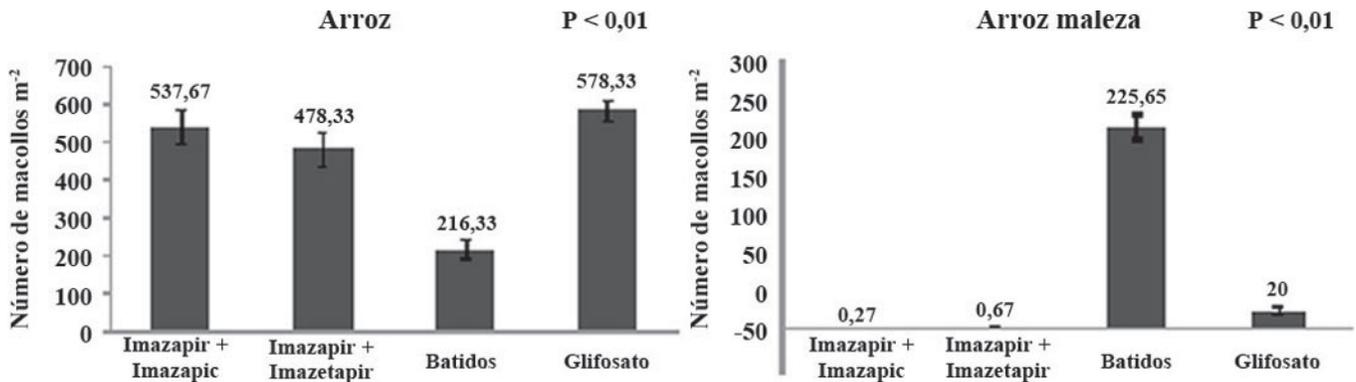
Experimento sobre control de AM con glifosato, preparación del suelo batido y el sistema Clearfield (variedad CF-205 + dos herbicidas imidazolinonas)

En la Figura 4 se muestra que con los tratamientos: imazapir + imazapic e imazapir + imazetapir, no se encontraron macollos de AM, lo que confirma claramente que en este caso, los herbicidas del grupo de las IMI, a la

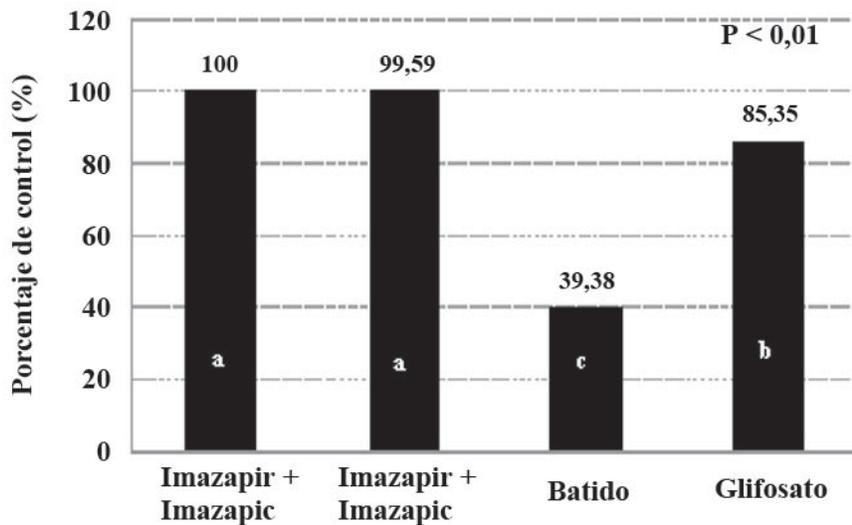
dosis de 150,06 g i.a. ha<sup>-1</sup> que equivalen a 37,51 imazapir + 112,54 imazapic o imazetapir g.i.a.ha<sup>-1</sup>, aplicados en postemergencia, son efectivos para el control de AM. Por otro lado, el número de macollos de arroz fue superior estadísticamente en los tratamientos imazapir + imazapic, imazapir + imazetapir y glifosato, que en el batido.

Cabe recordar, que los tratamientos batidos y glifosato se sembraron con la variedad ZETA 15, mientras que en los tratamientos con IMI se utilizó el cultivar mutante CF-205 con resistencia al herbicida, ambas variedades con alta capacidad de macollamiento. El número menor de macollos de arroz observado en el batido, es consecuencia de la competencia ejercida por la alta incidencia de AM.

Los tratamientos con 150,06 g i.a. ha<sup>-1</sup> de: imazapir + imazapic e imazapir + imazetapir, fueron eficaces en más de un 99% en el control de AM bajo las condiciones de este ensayo (Figura 5). El herbicida glifosato mostró un control de 85,35 %, obteniendo solo con el batido un 39,38%.



**FIGURA 4.** Efecto de cuatro tratamientos para el control de arroz maleza/rojo sobre el número de macollos del cultivo de arroz y el mismo en el lote cinco de la finca El Esfuerzo, municipio Ospino, estado Portuguesa. Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%. Onduty<sup>®</sup>: imazapir+imazapic. Lightning<sup>®</sup>: imazapir+imazetapir. Los tratamientos fueron aplicados cuando el arroz maleza tuvo hasta un macollo y en los casos de glifosato y batido se hicieron dos falsas siembras.



**FIGURA 5.** Efecto de cuatro tratamientos sobre el porcentaje de control en el lote cinco de la finca El Esfuerzo, municipio Ospino, estado Portuguesa. Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%. Onduty<sup>®</sup>: imazapir+imazapic. Lightning<sup>®</sup>: imazapir+imazetapir. Los tratamientos fueron aplicados cuando el arroz maleza tuvo hasta un macollo y en los casos de glifosato y batido se hicieron dos falsas siembras.

Estos resultados demuestran la efectividad del sistema Clearfield como herramienta para el manejo integrado del AM en campos con alta incidencia. Asimismo, coinciden con lo encontrado por otros autores, quienes afirman haber conseguido más de 90% de control de AM con la aplicación de herbicidas IMI (White and Hackworth, 1999; Webster y Masson, 2001; Steele *et al.*, 2002; Ottis *et al.*, 2003; Levy, 2004; Pellerin y Webster 2004; León, 2005; Chin *et al.*, 2007).

La dosis de 150,06 g i.a. ha<sup>-1</sup> de Onduty<sup>®</sup> o Lightning<sup>®</sup> fueron las adecuadas para el control eficiente del AM, bajo las condiciones del lote cinco de la finca El Esfuerzo. Conviene mencionar que en otros países los herbicidas IMI se aplican en dos fracciones, tal como reportan Ávila *et al.*, 2005 en un experimento realizado en Texas-EE. UU., para evaluar el efecto del tiempo de inundación en el control de AM.

Utilizando imazetapir en la variedad mutante CL-161 se encontró más de 90% de control de AM en el tratamiento, en el cual se asperjaron 70 g i.a. ha<sup>-1</sup> de imazetapir en preemergencia, seguido de otra aplicación a la misma dosis de 70 g i.a. ha<sup>-1</sup>, cuando el cultivar mutante tuvo de tres a cuatro hojas y la inundación se hizo antes de los 14 d después de la aplicación del herbicida.

Resultados similares fueron encontrados por León, 2005, en Louisiana EE. UU. Por su parte, Chin *et al.*, 2007 en Vietnam, indicaron que la inundación después de la aplicación de IMI en arroz es necesaria para el eficaz control de arroz rojo y otras malezas.

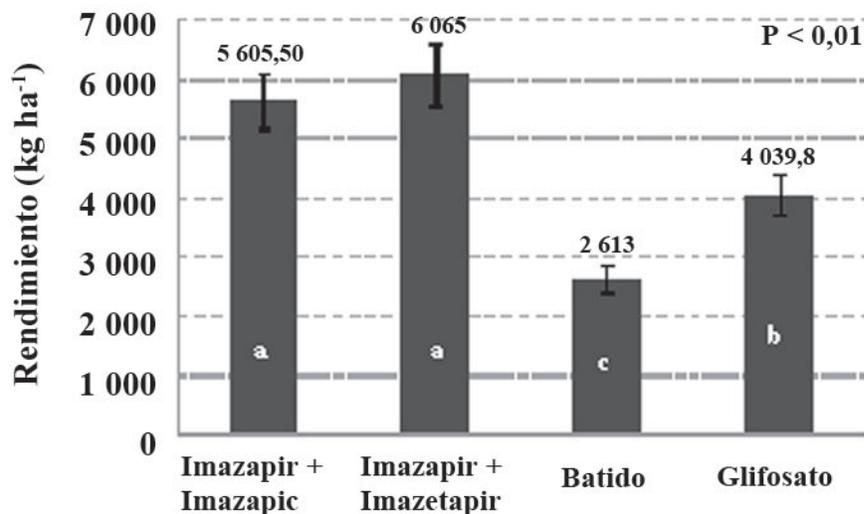
Los efectos del control de AM sobre el rendimiento en paddy, producto de los distintos tratamientos en los lotes tratadas con los herbicidas imazapir + imazetapic e imazapir + imazetapir mostraron 55,22 y 30,77%, se observó más rendimiento en aquellas con el batido y con glifosato, respectivamente (Figura 6). Obviamente, estos resultados están relacionados con el número de macollos de AM encontrados en cada tratamiento. Las parcelas sin esta maleza produjeron los mejores rendimientos y resultaron peores las que tenían mayor densidad.

Se puede decir entonces que 222,65 macollos m<sup>-2</sup> de AM reducen drásticamente el rendimiento de la variedad ZETA 15, mientras que en el otro experimento se encontró

que 20 macollos m<sup>-2</sup> lo hacen de una manera intermedia. En consecuencia, estos datos confirman que la dosis de 150,06 g i.a. ha<sup>-1</sup> de imazapir + imazapic e imazapir + imazetapir es la correcta para obtener un eficaz control del AM bajo las condiciones del lote cinco de la finca El Esfuerzo.

En el país se realizaron varios experimentos para estimar el impacto del AM en el rendimiento del arroz cultivado. Así se tiene que, en un estudio en la variedad ZETA 15 redujeron el rendimiento en 105 plantas de AM (lema y palea de color negro aristado) en 71% (Ortiz, 2005b), municipio Anzoátegui, estado Cojedes, otro experimento en 50 y 20 plantas de AM (negro sin arista) en 62 y 48,32% (Ortiz y Torres, 2004), ubicado en Maracay, estado Aragua. Estos resultados dan una idea general de cómo en la medida que aumenta la contaminación de AM en las siembras, baja el rendimiento del arroz cultivado.

Otro aspecto importante derivado de este estudio, es que el sistema Clearfield podría ser una opción en el manejo integrado del AM para reducir la densidad de semillas en el banco de malezas del suelo, siempre y cuando se cumplan los criterios de su manejo (programa de custodia) para evitar el flujo de genes entre la variedad mutante y los AM, de llegar a ocurrir, el sistema perdería las bondades sobre el control.



**FIGURA 6.** Efecto de cuatro tratamientos para el control de AM sobre el rendimiento paddy del arroz cultivado, en el lote cinco de la finca El Esfuerzo, municipio Ospino, estado Portuguesa. Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%. Onduty®: imazapir+imazapic. Lightning®: imazapir+imazetapir. Los tratamientos fueron aplicados cuando el arroz maleza tuvo hasta un macollo y en los casos de glifosato y batido se hicieron dos falsas siembras.

Se debe hacer las prácticas técnicas recomendadas como: usar la variedad mutante solamente dos ciclos, aplicar la dosis correcta de los herbicidas IMI, evitar que haya floración del AM cuando la variedad mutante está en ese mismo estadio fisiológico, no guardar semilla de un ciclo a otro, utilizar semilla de la variedad mutante certificada, y en los ciclos siguientes al sistema Clearfield emplear semilla certificada libre de arroz rojo.

El resguardo de la variedad de arroz resistente a IMI corresponde a que ésta se cruza con el AM y el gen que le confiere dicha resistencia puede pasar a la maleza, por lo tanto, se hace resistente a estos herbicidas, encontrando diferencia varietal en la tasa de flujo de genes. En Arkansas EE. UU. se halló un mayor porcentaje de flujo de genes para la variedad de arroz CL161 (0,008%) que con CL121 (0,003%).

La mayoría de los híbridos se localizaron a 1 m de distancia de la variedad cultivada, sin embargo, otros híbridos fueron hallados hasta 6 m desde el cultivo, que fue la distancia límite de detección de este experimento (Shivrain *et al.*, 2007). En otro estudio, Song *et al.* (2004) demostraron que el polen del arroz puede recorrer hasta 38,4 m de distancia cuando la velocidad del viento fue de  $2,52 \text{ m s}^{-1}$ , donde se detectó que el polen se encuentra en mayor proporción entre 1 a  $1 \frac{1}{2}$  m que a 2 m de altura.

Otra situación de cuidado ocurre por el desgrane de las variedades con resistencia a herbicidas, lo cual sucede al momento de la cosecha por el golpeteo del molinete y la mesa de corte de la combinada. Este arroz desgranado al ser incorporado al suelo por las labores de labranza, puede emerger como arroz voluntario en los siguientes ciclos de siembra y cruzarse, tanto con las variedades tradicionales como con los AM, contribuyendo de esta manera a que continúe el flujo de polen.

Además, estas semillas pueden diseminarse a grandes distancias a través de los camiones o maquinarias contaminadas después de las cosechas, llevando las semillas con el gen de resistencia a otros campos (Valverde, 2007).

En Costa Rica se han encontrado híbridos entre el arroz rojo (tipo Indica) y la variedad mutante CFX-18 (tipo Japónica) con resistencia a IMI después de dos ciclos de siembra y en el tercer ciclo una rotación con una variedad tradicional, todo ello de acuerdo con las recomendaciones del programa de custodia del arroz IMI. Afortunadamente, estos híbridos mostraron alta esterilidad (Valverde, 2007).

Por otra parte, en campos arroceros de Arkansas EE. UU. se confirmó la presencia de híbridos entre el AM y variedades de arroz con resistencia a IMI debido al flujo de genes, los cuales eran menos aptos que el AM o las variedades (padres). Entonces se cree que esta barrera reproductiva de la primera generación puede ser la razón por la cual no se ven muchos de estos híbridos en campos de agricultores que usan variedades IMI (Rajguru *et al.*, 2005).

Igualmente en Brasil, Menezes *et al.*, 2008a demostraron que 55,7% de los AM que escaparon al control con IMI, asimismo, resisten a la dosis de  $70 \text{ g i.a. ha}^{-1}$  imazetapir +  $25 \text{ g i.a. ha}^{-1}$  de imazapic.

Adicionalmente, diferencias genéticas entre el arroz cultivado y el AM se espera en otros loci de la enzima acetolactato sintasa (ALS), principalmente en regiones no codificante, lo que demuestra la plasticidad fenotípica de esta maleza. Esto indica que podrían ocurrir mutaciones naturales de los nucleótidos en el gen de la ALS del arroz rojo, que pueden originar individuos resistentes a IMI obtenidos naturalmente sin que ocurra flujo de genes (Shivrain *et al.*, 2004).

Estos AM con resistencia natural podrían encontrarse por presión de selección, ocasionada por el uso repetido de IMI. Por esta razón, una de las recomendaciones en el uso de la tecnología Clearfield, es la rotación de herbicidas después de dos ciclos de siembra con variedades IMI con otros herbicidas que tengan diferentes mecanismos de acción.

En las parcelas tratadas con los herbicidas imazapir + imazapic e imazapir + imazetapir tuvieron 60,40 y 17,60% más número de panículas/ $\text{m}^{-2}$  (Figura 7) que aquellas con el batido y con el glifosato, respectivamente, coinciden con el análisis de correlación que indicó la presencia de una asociación positiva entre el rendimiento y el número de panículas/ $\text{m}^{-2}$  ( $r=0,84$ ,  $P<0,0001$ ).

De forma semejante se aprecia que en la figura el número de granos por panículas no contribuye a explicar el rendimiento, por cuanto en las parcelas con el tratamiento glifosato se obtuvo el mayor valor.

Pudiendo argumentar que ese tratamiento tuvo la variedad ZETA 15, con panículas más grandes que la variedad CF-205 utilizada en los tratamientos con IMI, por lo tanto con más granos por panícula. En el caso de la variedad ZETA 15 se observa claramente como la mayor densidad de arroz rojo disminuyó el número de granos en tratamiento con el batido.

De igual modo, con granos más grandes en la variedad ZETA 15, se observaron pesos mayores de 1 000 granos en los tratamientos con el batido y el glifosato, que en los tratamientos con IMI con la variedad CF-205 de granos más pequeños. También, se aprecia que la significativa superioridad en peso de los granos del tratamiento con el batido, que a su vez fue significativamente menor en número de panículas m<sup>-2</sup>. Esto obedece a que con menos panículas por planta, los pocos granos adquieren mayor peso (Figura 6).

Por lo tanto, ni el peso de 1 000 granos ni el número de granos por panícula pueden explicar los rendimientos obtenidos, sino el número de panículas m<sup>-2</sup>, porque la característica común en ambas variedades es su alta capacidad de macollamiento. La fertilidad no mostró diferencias estadísticas entre los tratamientos ni entre las variedades, considerándose normal, pues, los valores se encontraron entre 92 y 93,33%.

En la variedad ZETA 15 se encontró que el número de panículas m<sup>-2</sup> y número de granos por panícula, fueron los componentes más afectados por la interferencia con AM

y correlacionados negativamente con el rendimiento. No obstante, ZETA 15 mostró menor reducción del número de granos por panícula y peso de 1 000 granos que la otra variedad (FONAIAP 2000) bajo estudio (Ortiz, 2005b), comportamiento similar ocurrió entre ZETA 15 y CF-205 en este estudio, pero en este caso, el mayor rendimiento se localiza en el cultivar mutante donde se aplicó los herbicidas IMI en postemergencia para el control de AM.

Resultados similares a este experimento son hallados por Chin *et al.*, 2007, quienes determinaron que los tratamientos con diferentes dosis de imazapir + imazapic (100, 110 y 120 g i.a. ha<sup>-1</sup> e imazapic a 120 g i.a. ha<sup>-1</sup>) mostraron más panículas m<sup>-2</sup> y rendimiento que el tratamiento control sin IMI cuando se utilizó la variedad Clearfield mutante de Vietnam.

En la fertilidad de las panículas no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos. Onduty<sup>®</sup>: imazapir+imazapic. Lightning<sup>®</sup>: imazapir+imazetapir. Los tratamientos fueron aplicados cuando el arroz maleza tuvo hasta un macollo, en los casos de glifosato y batido se hicieron dos falsas siembras.

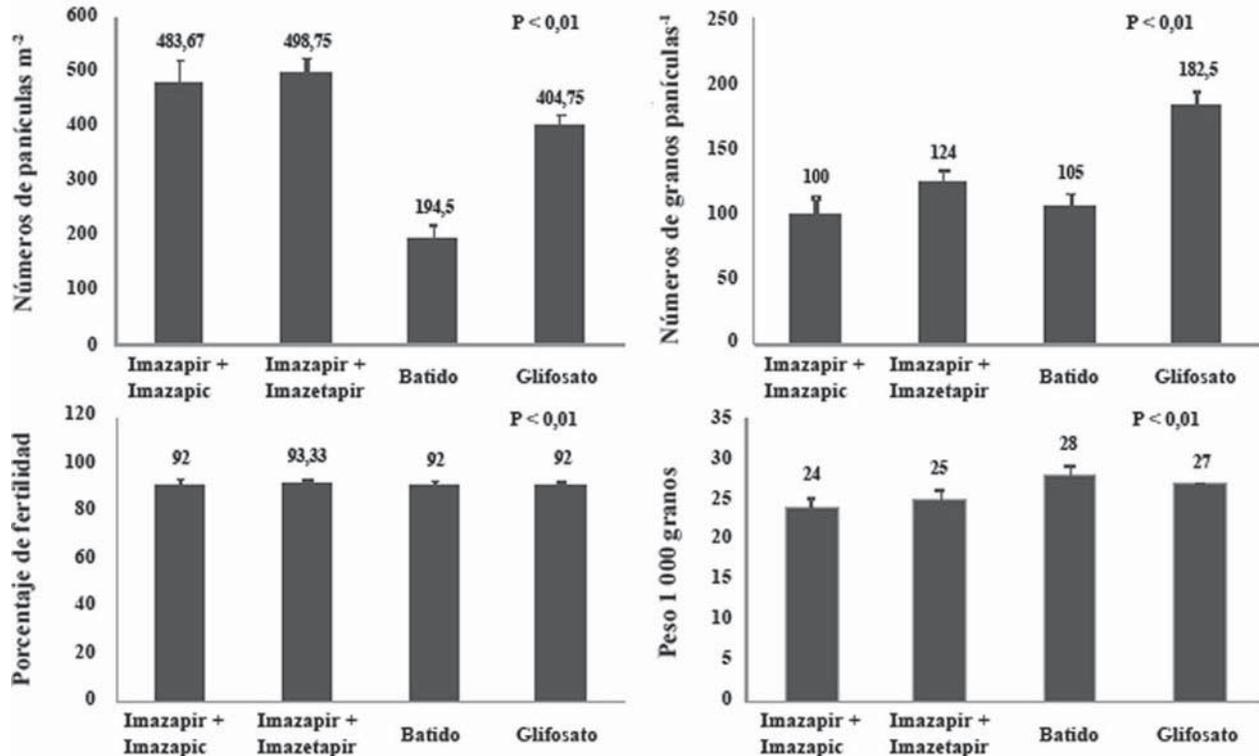


FIGURA 7. Efecto de cuatro tratamientos para el control de arroz maleza/rojo, sobre los componentes de rendimiento del arroz cultivado, en el lote cinco de la finca El Esfuerzo, municipio Ospino, estado Portuguesa. Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%.

## CONCLUSIONES

De acuerdo con las condiciones de estos experimentos se puede concluir que:

- Los rendimientos observados en la variedad ZETA 15, en la situación del primer experimento con una infestación media de AM, fueron mayores en los tratamientos con falsa siembra (bien sea mediante batido del suelo o la quema química con glifosato) y oxadiargil/ butacloro (aplicados en lámina de agua) que en el testigo sin control.
- Sin embargo, en estos últimos tratamientos se produjo una gran reducción en el número de panículas m<sup>-2</sup> con respecto de los tratamientos batido y glifosato, quizás debido a la toxicidad generada en algunas zonas de las melgas donde quedaron charcos de agua con herbicida después que se hizo el drenaje de los tanques, previamente antes de la siembra del arroz pregerminado.
- Cuando la incidencia de arroz rojo fue alta, las aplicaciones postemergentes con los herbicidas IMI (imazapir+imazapic e imazapir+imazetepir), a la dosis de 150 g i.a. ha<sup>-1</sup> en la variedad mutante CF-205 con resistencia a estos herbicidas, mostraron mayores rendimiento y control del AM que los tratamientos con aplicación de herbicidas presiembra en falsa siembra tanto con batido como con glifosato.  
  
Cuando las densidades de AM fueron intermedias el manejo de AM con la falsa siembra con batido/glifosato y los herbicidas en lámina butacloro/oxadiargil resultaron eficaces, sin embargo con una alta incidencia de AM fue mejor la aplicación en postemergencia de imazapir+imazapic e imazapir+imazetepir en la variedad mutante CF-205.
- El sistema Clearfield podría ser una opción en el manejo integrado del AM en el país para reducir la densidad de semillas en el banco de malezas del suelo, siempre y cuando se cumplan los criterios de su custodia.

## AGRADECIMIENTO

Esta investigación fue posible por la valiosa ayuda de la técnica Estilita Alvarado, jefa de campo de la Finca El Esfuerzo. Asimismo, al aporte del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, particularmente bajo la excelente gerencia del Doctor Bernardo Méndez. También, la empresa BASF Venezuela por el suministro de

la semilla Clearfiel y los herbicidas IMI y principalmente a su técnico Ingeniero Artídes Leal por la colaboración prestada para la realización de los experimentos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abreu, A y E. Solórzano. 2006. Estudio del banco de semilla de arroz rojo (maleza) del suelo en la finca "Soledad de Armo" ubicada en el estado Portuguesa. Trabajo de Grado. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela 120 p.
- Armenta, J. and J. Coulombe. 1993. Highlights of the Caribbean Rice Improvement Network Activities (1986-1992), Bonao, República Dominicana: CRIN/CIAT/IRRI/IICA/SEA: 53-65 pp.
- Ávila, L., S. Senseman, G. Mccauley, J. Handler and J. O'Barr. 2005. Effect of Flood Timing on Red Rice (*Oryza spp.*) Control with imazethapyr applied at different dry-seeded rice growth stages. *Weed Technology* 19:476-480.
- BASF. 2011(a). Kifix. Disponible en: <http://www.agro.basf.com.ar/clearfield/clearfield.htm>. [Consultado: agosto 26, 2011].
- BASF. 2011(b). Kifix. Disponible en: <http://www.agro.basf.com.ar/images/folletos/kifix.pdf>. [Consultado: agosto 26, 2011].
- Castillo, J. 2006. Evaluación de la contaminación con arroz rojo en la producción de semillas y granos de arroz en el estado Portuguesa. Trabajo de Grado. Maracay, Ven. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía 90 p.
- Castillo, J., D Gauna y N. Saldain. 2004. II. Estudios para el control de arroz rojo: selectividad del ronstar en Inia Tacuarí y El Paso 144 y su efecto en el control del arroz rojo. INIA TREINTA Y TRES - Estación Experimental del Este Arroz - Resultados Experimentales 2003-04. Uruguay 144-159 pp.
- Català, M. 1995. Chemical and cultural practices for red rice control in rice fields in Ebro Delta (Spain). *Crop Protection* 14(5):405-408.
- Chin, D., T. Thien, H. Bi1 and N. Nhiem. 2007. Study on weed and weedy rice control by imidazolinone

- herbicides in Clearfield™ paddy grown by IMI-tolerance indica rice variety. *Omonrice* 15:63-67.
- Croughan, T. 1994. Herbicide resistant rice. 25th Rice Technical Working Group Meeting 44 p.
- Croughan, T. H Utomo, D. Sander and M. Braverman. 1996. Herbicide resistant rice offers potential solution to red rice problem. *Louisiana Agriculture* 39:10-13.
- Croughan, T., J. Baker, R. Dunand and M. Pizzolatto. 1984. Production of commercial rice varieties resistant to herbicides effective over red rice. *Ann. Prog. Rept., Rice Exp. Sta., Louisiana Agricultural Experimental Station. Bulletin Nº 76.* 67-68 pp.
- Croughan, T., M. Pizzolatto and D. Trump. 1986. Tissue culture production of commercial rice varieties resistant to herbicides effective on red rice. *Ann. Rept., Rice Exp. Sta., Louisiana Agricultural Experimental Station Bulletin Nº 78.* 35 p.
- Delouche, J., N. Burgos, D. Gealy, G. Zorrilla y R. Labrada. 2007. Arroces maleza-origen, biología y control. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma 157 p.
- Ellstrand, N. 2003. *Dangerous Liasons: When Cultivated Plants Mate with Their Wild Relatives.* The Johns Hopkins University Press. Baltimore, MD. 205 p.
- Ferrero, A. 2001. Last results realting to red Rice control. Interregional Cooperative Research Network on Rice in the Mediterranean Climate areas (MedNetRice). *Medoryzae* 9:2-9
- Ferrero, A. 2004. Arroz-maleza, características biológicas y control. **In:** Manejo de malezas para países en desarrollo Addendum I. Ed. Ricardo Labrada. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) 34 p.
- Ferrero, A., F. Vidotto, P. Balsari and G. Airoidi. 1999. Mechanical and chemical control of red rice (*Oryza sativa* L. var. *sylvatica*) in rice (*Oryza sativa* L.) pre-planting. *Crop Protection* 18:245-251.
- Fischer, A. 1999. Problems and opportunities for managing red rice in Latin America. **In:** Report of the global workshop on red rice control. 30 August-3 September, Varadero, Cuba 77-85 pp.
- Gealy, D. R., N. E. Saldain and R. E. Talbert. 2000. Emergence of red rice (*Oryza sativa*) ecotypes under dry-seeded rice (*Oryza sativa*) culture. *Weed Tech.* 14:406-412.
- Japan International Research Center for Agricultural Science (JIRCAS). 1995. TOPIC 1: Ecology of weedy rice (*Oryza sativa* L.) and its control strategy in direct seeded rice fields in Malaysia. Diponible en: <http://www.jircas.affrc.go.jp/kankoubutsu/annual/1995/overview/cpphdiv2.html>. [Consulta 15 agosto, 2009]
- Kwon, S, R., Smith, and R., Talbert. 1991. Red Rice (*Oryza sativa*) control and suppression in rice. *Weed Science* 5:811-816.
- Levy, R. 2004. Imidazolinone-tolerant rice: weed control, crop response, and environmental impact. Ph. D. dissertation. Louisiana State University, Baton Rouge, LA. 66 p.
- Linscombe, S., F. Jodary, P. Christou, M. Braverman, J. Oard and D. Sanders. 1996. Potential for the use of transgenic rice for the control of *Oryza sativa* and other rice weeds. *Proc. 2<sup>nd</sup> Int. Weed Control Congress, Copenhagen* 435-439 pp.
- Linscombe, S., P. Christou, M. Braverman, F. Jodari and P. Bollich. 1994. Evaluation of transgenic glufosinate-resistant rice lines. 25th Rice Technical Working Group Meeting 54 p.
- London, J. and B., Schaal. 2008. Origins and Population Genetics of Weedy Red Rice in the United States. *Molecular Ecology* 16(21):4 523-4 535.
- León, C. 2005. Red rice competition and control in cultivated rice. Thesis of Doctor of Philosophy. Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College 101 p.
- León, C., E. Webster, S. Bottoms and D. Blouin. 2008. Water management and chemical control of red rice (*Oryza punctata*) in water-seeded imidazolinone-resistant rice. *Weed Technology* 22(1):132-135.
- Machado, W. 2000. Planificación y análisis de experimentos de campos en grandes parcelas sin repetición. Alcance. *Revista de la Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay. Venezuela* 59:24-65.

- Menezes, V., C. Mariot e A. Kalsing. 2008b. Controle de escapes de arroz-vermelho no sistema de produção Clearfield em arroz irrigado. XXVI Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas y XVIII congreso de la asociación latinoamericana de malezas - Ouro Preto, MG – Brasil CD-Room.
- Noldin, J., J. Chandler, M. Ketchersid and G. McCauley. 1999. Red rice (*Oryza sativa*) Biology. II. Ecotype sensitivity to herbicides. *Weed Technology* 13:19-24.
- Noldin, J y T. Cobucci. 1999. Manejo de plantas de danhinas na cultura do arroz em varzeas e terras altas. **In:** VI Reunião Nacional de Pesquisa de Arroz. Goiânia: EMBRAPA-CNPAF. 84-100 p.
- Ortiz, A. 2005a. Manual de evaluación del banco de semillas de arroz rojo (arroz maleza) en el suelo. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Desplegable 12 p.
- Ortiz, A. 2005b. Efecto de períodos de interferencia del arroz rojo sobre el rendimiento y sus componentes en las variedades de arroz ZETA 15 y FONAIAP 2000. *Agronomía Trop.* 55(1):7-34.
- Ortiz, A., L. López, M. Cásares y H. Moratinos. 2009. Evaluación del banco de semilla de arroz maleza y voluntario en el suelo. *Agronomía Trop.* 59(4):123-140.
- Ortiz, A. y S. Torres. 2004. La densidad de arroz rojo sobre el rendimiento y sus componentes de la variedad de arroz ZETA 15. *Agronomía Trop.* 54(3):321-333.
- Ortiz, A. y T. Budowski. 1998. Estudio preliminar de la incidencia de arroz rojo y otras malezas en el arrozal venezolano. *Investigaciones Agrícolas – DANAC* (3):1-8.
- Ottis, B. V., J. M. Chandler, and G. N. McCauley. 2003. Imazethapyr application methods and sequences for imidazolinone-tolerant rice (*Oryza sativa*). *Weed Technol.* 17:526-533.
- Pazos F. 2007. Cultivos no-transgénicos resistentes a herbicidas Una nueva “solución” de la Industria: la tecnología Clearfield. Disponible en: <http://www.rapaluruaguay.org/Clearfield.pdf> [Consulta: agosto 26, 2011].
- Pellerin, K. J. and E. P. Webster. 2004. Imazethapyr at different rates and timings in drill-+- and water-seeded imidazolinone-tolerant rice. *Weed Technol.* 18:223-227.
- Rajguru, S., N. Burgos, V. Shivrain and J. Stewart. 2005. Mutations in the red rice ALS gene associated with resistance to imazethapyr. *Weed Sci.* 53:567-577.
- Rathore, K., K. Rao and T. Hodges. 1994. Production of herbicide resistant rice plants from protoplasts. 25th Rice Technical Working Group Meeting. 145-146 pp.
- Shivrain, V., N. Burgos, S. Rajguru, O. Sparks and M. Anders. 2004. Potential for gene flow between imidazolinone-resistant rice and red rice. *Proc. Weed Sci. Soc. Am.* 44:65.
- Shivrain, V., N. Burgos, M. Anders, S. Rajguru, J. Moore and M. Sales. 2007. Gene flow between Clearfield™ rice and red rice. *Crop Protection* 26:349-356.
- Song, Z., B. R. Lu and J. Chen. 2004. Pollen flow of cultivated rice measured under experimental conditions. *Biodiversity and Conservation* 13:579-590.
- Steele, G., J. Chandler and G. McCauley. 2002. Control of red rice (*Oryza sativa*) in imidazolinone-tolerant rice (*O. sativa*). *Weed Technol.* 16:627-630.
- Valverde, B. 2007. Flujo de genes de cultivos resistentes a herbicidas a malezas emparentadas: *Experiencias con el arroz (Oryza spp.)*. **In:** Seminario- Taller Iberoamericano. Resistencia a herbicidas y cultivos transgénicos. INIA- Uruguay. Disponible on line en: [http://www.inia.org.uy/estaciones/la\\_estanzuela/webseminariomalezas/articulos/valverdebernal.pdf](http://www.inia.org.uy/estaciones/la_estanzuela/webseminariomalezas/articulos/valverdebernal.pdf). [Consulta 23 agosto, 2009].
- Vaughan, D, P. Sanchez, J. Uskini, A. Kaga and N. Tomooka. 2005. Asian Rice and Weddy Rice- Evolutionary Perspectives. **In:** J. Gressel (ed.), *Crop Feralilty and Volunteerism: A Threat to Food Security in the Transgenic*. CRC Press, Boca Ratón, Florida. EE. UU. 257-277 p.
- Villa, S. C. 2006. Arroz Tolerante a imidazolinonas: control do arroz-vermelho, persistência de herbicidas e fluxo gênico. Trabajo de Grado de Maestría Posgrado en Producción Vegetal. Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS). Rio Grande do Sul. Brasil. 54 p.

Webster, E. and J. Masson. 2001. Acetolactate synthase inhibiting herbicides on imidazolinone-tolerant rice. *Weed Science* 49:652-657.

Wheeler, C., F. Baldwin, D. Gealy and K. Gravois. 1997. Weed control in Liberty-tolerant rice. Research Series Arkansas Agricultural Experiment Station. 64-66 p.

White, R. and H. Hackworth. 1999. Weed control with imidazolinone tolerant rice. *Proc. South. Weed Sci. Soc.* 52:185.

Zimdahl, R. C. 1999. *Fundamentals of weed science*. Second edition. Academic Press, San Diego, USA. 666 p.

## EFICIENCIA DE USO DEL NITRÓGENO EN ARROZ DE SECANO EN UN SUELO ÁCIDO DEL OCCIDENTE DEL ESTADO GUÁRICO<sup>1</sup>

### NITROGEN USE EFFICIENCY IN UPLAND RICE ON AN ACID SOIL IN WESTERN GUÁRICO STATE<sup>1</sup>

Nidia Alfonzo\*, Mingrelia España\*\*, Marisol López\*\*\*, Evelín Cabrera-Bisbal\*\*\* y Pablo Abreu\*

<sup>1</sup>Trabajo financiado por AIEA-Proyecto INIA-CENIAP 109-62R3 del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA).

\*Investigadores. INIA Guárico. \*\*Investigadora. IDEA. \*\*\*Investigadores. INIA-CENIAP. Recursos Agroecológicos.

Correo electrónico: nalfonzo@inia.gob.ve - mespana@idea.gob.ve

#### RESUMEN

Con el fin de evaluar la eficiencia de absorción, el uso agronómico y la recuperación de nitrógeno (N) en arroz secano, *Oryza sativa* L., cultivados en condiciones de suelo ácido (Kandic Plinthustults ácido), se realizó un experimento de campo utilizando dos cultivares, el CT-102 y el FONAIAP-2000 (F-2000) en el sureste del estado Guárico. El diseño experimental fue de bloques al azar con tres repeticiones. Las dosis de nutrientes (kg ha<sup>-1</sup>) fueron 80, 100 de N, 80 de fósforo (P) y 80 de potasio (K) se utilizó urea, fosfato diamónico y cloruro de potasio como fuentes nutricionales. <sup>15</sup>N - urea (5% de exceso de átomos) se empleó en las microparcelas isotópicas. Al momento de la cosecha se tomaron muestras de suelo y plantas (cultivo y malezas) para realizar determinaciones químicas y calcular las eficiencias de uso fertilizante N (EUFN), eficiencia agronómica (EA) e índice de cosecha (IC). El rendimiento de grano varió desde 5,0 hasta 5,9 t ha<sup>-1</sup> significativamente mayor en F-2000 entre cultivares no se observaron diferencias estadísticas para EUFN e IC. Sin embargo, se observaron diferencias estadísticas significantes de N derivado del fertilizante y EA. Se observó el mayor rendimiento de grano y N eficiencia en F-2000 con un alto potencial para ser utilizado en suelo ácido. Los resultados también muestran que aunque el cultivo obtuvo una mejor respuesta con la mayor dosis de N, la eficiencia del uso de N tiende a disminuir, lo que implica que el exceso de N eliminado del sistema suelo-planta podría causar más contaminación ambiental.

**Palabras Clave:** eficiencia; nitrógeno; *Oryza sativa* L.; sabanas mal drenadas; secano; suelo ácido.

#### SUMMARY

In order to evaluate absorption efficiency, agronomic use and recovery of N in rainfed rice, *Oryza sativa* L., cultivars in soil acid condition (acid Kandic Plinthustults), a field experiment was carried out using two cultivars, the CT-102 and FONAIAP-2000 (F-2000) at southeastern of Guárico State. The experimental design was randomized block with three replications. The doses of nutrients (kg ha<sup>-1</sup>) were 80-100 N, 80 P and 80 K, was used urea, diammonium phosphate and potassium chloride as nutritional sources. <sup>15</sup>N-urea (5 atom% excess) was used in the isotopic microplots. At moment of harvest samples were taken of soil and plant (crop and weed) for chemical determinations, were calculated the efficiency of use of nitrogen fertilizer (EUFN), agronomic efficiency (EA) and harvest index (IC). Grain yield ranged from 5.0 to 5.9 t ha<sup>-1</sup> significantly higher in F-2000. between cultivars were not observed statistical differences for EUFN and IC. Although were observed significant differences statistical for N derived from fertilizer and EA. The highest grain yield and N efficiency was observed in F-2000 with high potential to be used in soil acid. The results also show that although the crop had a better response with higher doses of N, efficiency use of N tends to decrease, implying that excess of nitrogen removed of the soil-plant system could cause more environmental pollution.

**Key Words:** acidic soil; efficiency; nitrogen; *Oryza sativa* L.; poorly drained savannas; rainfed.

## INTRODUCCIÓN

El arroz, *Oryza sativa* L., alimento básico en las zonas tropicales y subtropicales, tradicionalmente se cultiva en suelo inundado por riego. No obstante, en los últimos años se amplió el área dedicada a la siembra de secano en América Latina. En Brasil por ejemplo, existen cerca de 4 millones de hectáreas de arroz de secano (Urquiaga y Zapata, 2000). Venezuela presenta condiciones edafoclimáticas que favorecen la producción de arroz de secano, cerca de 20% del territorio nacional (18,2 millones de hectáreas) se caracterizan por poseer mal drenaje, su principal ocurrencia es en zonas planas sujetas al desborde de ríos y en menor proporción a niveles freáticos altos, Comerma (2009) señala que taxonómicamente son suelos del suborden Acuic de Vertisoles, Inceptisoles, Entisoles, Ultisoles, Alfisoles y del orden Histosol, cuyos principales usos son la ganadería extensiva, el arroz y zonas de reserva de flora y fauna.

Así mismo, el estado Guárico forma parte de la llanura deltaica joven ocupada por la zona más deprimida de los llanos centrales y occidentales, según Comerma (2009) pudiera llamarse el centro geográfico de Venezuela que ocupa alrededor de 7,6 millones de ha, Guárico es uno de los principales estados productores de arroz (Sanabria *et al.*, 1999). Sin embargo, para obtener altos rendimientos en este rubro bajo inundación se emplean altas dosis de nitrógeno (N), este elemento representa aproximadamente 70% del total de nutrientes aplicados como fertilizantes (N + P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> + K<sub>2</sub>O).

Por otra parte, el arroz es considerado como uno de los cultivos más demandante de fertilizantes nitrogenados en los países productores (FAO, 2004), y la urea es la fuente de N comúnmente usada, cuya eficiencia de recuperación de N, a partir de este fertilizante es generalmente baja, menor de 40% para arroz bajo inundación (Craswell y Godwin, 1984; Carrillo de Cori, 1992). Mientras que la producción de arroz en condiciones de secano y en suelos ácidos de sabana, generalmente, el N residual de un cultivo es aprovechado por el cultivo subsiguiente (Urquiaga y Zapata, 2000), lo que permite disminuir las dosis de aplicación de N-fertilizante y los riesgos de contaminación de los acuíferos y reservas de agua.

En este sentido, en el eje Píritu - Becerra, sector Tapicito del estado Guárico, se encuentra una gran proporción de suelos en posiciones bajas con mesas freáticas altas que están siendo dedicadas al sistema de arroz de secano por pequeños y medianos agricultores, quienes manejan el agroecosistema con el referencial tecnológico de altos

insumos similar al utilizado en el sistema de riego Río Guárico, pero sin aplicar riego ni la práctica de batido del suelo característico de este último. Respecto a estas condiciones se pudiera orientar un manejo más conservacionista y agroecológico, por lo que una de las estrategias debe estar dirigida a fomentar el uso eficiente de los fertilizantes nitrogenados de origen industrial, para no afectar la eficiencia de absorción y de utilización de N (kg grano kg<sup>-1</sup> N) tal como lo refieren Samonte *et al.* (2006). Los objetivos de este trabajo fueron evaluar la eficiencia de absorción, el uso agronómico y la recuperación de N en el sistema suelo-planta utilizando cultivares de arroz de secano en condiciones de suelo ácido y mal drenado en la localidad Tapicito en el occidente del estado Guárico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Ubicación:** el experimento se realizó en sabanas mal drenadas, a posición fisiográfica estero-bajío en la localidad Tapicito, estado Guárico (8° 56' 68" de latitud norte y 67° 45' 70" de longitud oeste).

**Características edáficas:** el suelo se clasificó taxonómicamente como Kandic Plinthustults Af mixto Isohipertrémico (Ultisol) de muy baja fertilidad, materia orgánica (<6 g kg<sup>-1</sup>), disponibilidad de P-Olsen (3 mg kg<sup>-1</sup>), K-Olsen (20 mg kg<sup>-1</sup>), calcio-Morgan (30 mg kg<sup>-1</sup>) y magnesio-Morgan (19 mg kg<sup>-1</sup>), de reacción ácida (pH suelo-agua 1:2 de 4,4), elevada cantidad de acidez intercambiable y alto porcentaje de saturación con aluminio (>83,7%), textura FL (arcillas 12-44 g kg<sup>-1</sup>, limo 588- 721 g kg<sup>-1</sup> y arenas entre 235-400 g kg<sup>-1</sup>). Agua aprovechable (>9,7%), mesas de agua alta.

**Drenaje:** externo e interno lento. Los análisis con fines de diagnóstico de fertilidad son realizados según el Manual de Métodos y Procedimientos de Gilabert *et al.*, 1990; mientras la caracterización taxonómica fue descrita por Rey (2002).

**Condiciones climáticas:** las precipitaciones promedio anual 1 130,1 mm con distribución en el tiempo unimodal, con un valor promedio máximo en agosto de 254,4 mm, entre 5 a 6 meses. La temperatura media varió de 21 a 35,9 °C.

**Materiales genéticos (C):** cultivares de arroz CT-102 material segregante tolerante a suelos ácidos y FONAIAP-2000, material comercial producido por INIA y ambos con un ciclo vegetativo de 115 d.

**Arreglo experimental y tratamientos:** se empleó un diseño en bloques al azar con tres repeticiones. El tamaño de las parcelas fue de 2 x 5 m<sup>2</sup>, dentro de esta área se ubicaron las micro parcelas isotópicas (1,5 x 1,5 m<sup>2</sup>), las cuales se marcaron con <sup>15</sup>N. La siembra se realizó en condiciones de secano, sin riego. En cada parcela se mantuvieron once hilos separados a 0,20 m.

**Fertilización:** las dosis en kg ha<sup>-1</sup> fue: 100 y 80 de N, 80 de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, y 80 de K<sub>2</sub>O. El N se aplicó en tres partes, una al momento de la siembra (40 kg ha<sup>-1</sup>) y dos reabonos de 30 kg ha<sup>-1</sup> cada uno para la dosis de 100. Con la dosis de 80 se utilizó 40 kg ha<sup>-1</sup> a la siembra y 40 kg ha<sup>-1</sup> de reabono, mientras que el P se fraccionó en dos partes (ambos en 40 kg ha<sup>-1</sup>). La fuente de P fue fosfato diamónico y la de K cloruro de potasio (KCL-60% K<sub>2</sub>O). El fertilizante utilizado en las parcelas isotópicas fue <sup>15</sup>N-urea a 5% átomos en exceso, a fin de establecer la eficiencia de recuperación del N-fertilizante por la planta y el suelo.

**Muestras de planta y suelo marcado:** se muestrearon todas las parcelas isotópicas, tanto tipos de planta (malezas, cultivo y grano) y de suelo; el de suelo se realizó con un tomador de muestras Unland a seis rango de profundidades: 0 a 10, 10 a 20, 20 a 30, 30 a 40, 40 a 50 cm y 50 a 60 cm. Las muestras de plantas se secaron a 70 °C hasta peso constante y molidas hasta <0,1 mm; y se les determinó N-total por el método de Kjeldahl (Kjeldahl, 1983). Durante el tiempo que las muestras de suelo marcadas fueron secadas, molidas y separadas a < 0,5 mm, se obtuvo el <sup>15</sup>N por Espectrofotometría de Emisión Óptica (IAEA, 2001).

Los cálculos se realizaron a través de las ecuaciones siguientes:

$$\%NDDF = \frac{\text{atom.exc.muestra}}{\text{atom.exc.fertilizante}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

$$\%NDDF \text{ (kg ha}^{-1}\text{)} = \frac{\%NDDF \times \text{Rend.dosisNtotal (kg ha}^{-1}\text{)}}{100} \quad (\text{Ecuación 2})$$

$$EUFN = \frac{DNF \text{ (kg ha}^{-1}\text{)}}{DNF} \times 100\%$$

NDDF = Nitrógeno derivado del fertilizante

EUFN = Eficiencia de uso de nitrógeno fertilizante

DNF= Dosis de nitrógeno aplicado como fertilizante

Los resultados son examinados usando análisis de variancia ANOVA de una cola (INFOSTAT, 2004).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Rendimiento de materia seca, de nitrógeno e índice de cosecha

El rendimiento en grano varió entre 5,0 a 5,9 t ha<sup>-1</sup> (Cuadro 1), con diferencias significativas (P < 0,05) entre los cultivares evaluados, mientras que en el rendimiento del vástago no se encontró diferencias significativas, los mayores rendimientos, tanto de materia orgánica como de N en cada cultivar, estuvieron relacionados a la mayor dosis de N aplicada, lo cual indica que hubo una respuesta del cultivo al N aplicado como fertilizante.

El crecimiento vegetativo de los cultivares, por efecto de las dosis de N, fueron interpretadas a través del índice de cosecha (IC), el cual varió entre 0,47 a 0,48 para materia seca, de 0,56 a 0,58 para N, no mostrando diferencias significativas entre los materiales, ni entre las dosis de N-fertilizante. Bufogle *et al.* (1997) señalaron que altos IC en variedades de arroz indican menor pérdida de N en el vástago (los residuos de cosecha), lo cual contribuye a una mayor eficiencia de uso de N-fertilizante. Sin embargo, bajo condiciones de manejo agroecológico donde se incorpore restos de cosecha de arroz en el suelo, como en este caso, resulta favorable que el IC de N sea bajo, porque la mayor cantidad de este elemento contenido en el tejido vegetal retorna al suelo y ayuda a incrementar su fertilidad y sustentabilidad.

Los resultados muestran que un poco más de la mitad del N absorbido, sale por la planta del sistema de producción exportado en el grano, pero, estos valores están dentro de los rangos reportados por otros investigadores, tanto para arroz como para otros cereales, como maíz y trigo (Bufogle *et al.*, 1997; Giambalvo *et al.*, 2010; Worku *et al.*, 2007).

### Eficiencia agronómica de uso del nitrógeno

La cantidad de N derivado del fertilizante (NDDF) del total de N absorbido, por ambos cultivares, fue similar dentro de una misma dosis de N (Cuadro 2), a pesar de presentar diferencias significativas entre dosis aplicadas, correspondiendo los mayores valores a 100 kg ha<sup>-1</sup>.

La mayor eficiencia en uso de N absorbido en grano refleja el efecto del componente genético intrínseco de la planta, así lo demuestran Tirol-Padre *et al.* (1996) en condiciones tropicales.

**CUADRO 1.** Rendimiento de materia seca y nitrógeno en cultivares de arroz de secano, con diferentes dosis de nitrógeno en un suelo ácido del estado Guárico.

Cultivar	Dosis N kg ha <sup>-1</sup>	Rendimiento materia seca kg ha <sup>-1</sup>			Rendimiento de N kg ha <sup>-1</sup>			IC	
		Grano	Vástago	Total	Grano	Vástago	Total	MS	N
CT-102	80	5 019 B	5 638 A	10,657 B	68 B	52 A	120 B	0,47	0,57
	100	5 532 AB	5 933 A	11,465 AB	77 A	57 A	134 A	0,48	0,57
F-2000	80	5 205 AB	5 916 A	11,121 AB	67 B	52 A	119 B	0,47	0,56
	100	5 867 A	6 306 A	12,173 A	80 A	57 A	137 A	0,48	0,58

IC = Índice de cosecha; MS = Materia seca; N = Nitrógeno. Medias seguidas por la misma letra en columna no son significativamente diferentes entre sí (Tukey,  $P \leq 0,05$ ).

**CUADRO 2.** Parámetros de eficiencia de uso del nitrógeno aplicado como fertilizante en cultivares de arroz de secano en un suelo ácido del estado Guárico.

Cultivar	Dosis N kg ha <sup>-1</sup>	Rend. N kg ha <sup>-1</sup>	Nddf kg ha <sup>-1</sup>	EUFN %	EA kg ha <sup>-1</sup>
CT-102	80	120 B	55 B	68,7 A	62,74 AB
	100	134 A	69 A	69 A	55,32 B
F-2000	80	119 B	56 B	70 A	65,06 A
	100	137 A	62 AB	62 A	58,68 AB

NDDF = Nitrógeno derivado del fertilizante; EUFN = Eficiencia de uso de N fertilizante; EA = Eficiencia agronómica. Medias seguidas por la misma letra en columna no son significativamente diferentes entre sí (Tukey,  $P \leq 0,05$ ).

La eficiencia agronómica varió entre 55 y 65%, mostrando diferencias significativas entre los cultivares, donde FONAIAP-2000 presentó la mayor eficiencia para la dosis de 80 kg ha<sup>-1</sup>. Estos valores coinciden con Samonte *et al.* (2006) quienes señalaron un rango entre 56 y 64 kg grano kg<sup>-1</sup> N, asimismo, establecieron que los factores que afectaron los contenidos de N y la salud del cultivo de arroz fueron el año de evaluación y el genotipo.

La eficiencia de uso del N-fertilizante (EUFN) fue similar entre cultivares, variando entre 62 y 70%. No

obstante, al incrementar la dosis de N en 20 kg ha<sup>-1</sup> (100 kg N ha<sup>-1</sup>), la EUFN se redujo aproximadamente 12% en F-2000, mientras que en el otro cultivar no se observan diferencias. Estas mismas condiciones fueron encontradas por Giambalvo *et al.* (2010) en un Vertisol, que al utilizar cultivares de trigo afectados por competición interespecífica, señalaron eficiencia de uso de N, 43% superior en el tratamiento control (sin N) en comparación con la dosis de 80 kg N ha<sup>-1</sup>, los valores de eficiencia de uso de N mostrados por ellos resultaron entre muy bajos (8-20%) y medios (alrededor de 31%).

### Recuperación de nitrógeno

La distribución del <sup>15</sup>N aplicado al cultivo se presenta en el Cuadro 3, se observa que la cantidad de <sup>15</sup>N recuperado por el sistema suelo - planta (SSP), entendiéndose como esté la cantidad de N recuperado por la planta, más lo que queda en el suelo a la profundidad de 0-60 cm; la cual varió de acuerdo con la dosis de N aplicada como fertilizante, donde la mayor recuperación se obtuvo con la dosis de 100 kg. Al mismo tiempo, para esa dosis se presentaron las mayores pérdidas de N las cuales variaron entre 25 y 32% del total aplicado, ello evidencia que aunque con una dosis alta N se observa aparentemente una mejor respuesta del cultivo, existe una menor eficiencia de uso de N, y el N que no utiliza el cultivo podría causar contaminación al ambiente, ya que altas cantidades se pierden del sistema, pudiendo ir a cuerpos de agua superficial o subterránea, manejo contrario a los principios agroecológicos que conduzcan a la sustentabilidad del agroecosistema arroz.

**CUADRO 3.** Distribución del  $^{15}\text{N}$  aplicado como fertilizante en un sistema de cultivo de arroz en condiciones de Secano.

	Cultivar (kg ha <sup>-1</sup> )			
	CT 102		F 2000	
<b>Entrada</b>				
Fertilizante	80	100	80	100
<b>Recuperado en el Sistema Suelo Planta (SSP)</b>				
Grano	31	40	31	37
Residuo de cosecha (vástago)	24	29	25	25
Suelo (0-60 cm)	3,1	4,8	3,1	4,8
Malezas	0,7	1,6	0,7	1,6
<b>Total Recuperado SSP</b>	58,8	75,4	59,8	68,4
<b>Pérdidas (E-Total SSP)</b>	21,2	24,6	20,2	31,6

### CONCLUSIONES

- Los cultivares de arroz evaluados mostraron valores de eficiencia de absorción, uso agronómico y recuperación de N muy buenas para ser utilizados en suelos ácidos de muy baja fertilidad y con manejos agroecológicos, donde se aprovechen los restos de cosecha para mejorar la fertilidad del suelo, contribuyendo al uso más eficiente del N suministrado por el suelo y los fertilizantes, condiciones claves de los agroecosistemas sustentables.
- Los mayores rendimientos en grano y mejor eficiencia de uso del N aplicado como fertilizante en el cultivar de arroz FONAIAP-2000, indican un alto potencial para ser utilizados en agroecosistemas de bajos insumos y con prácticas agroecológicas.
- Los altos valores de N obtenidos en los restos de cosecha, en ambos materiales genéticos (FONAIAP-2000 y CT-102), reflejan el potencial de estos cultivares para aportar N al suelo y reducir las aplicaciones de fuentes industriales, lo que representa un manejo más agroecológico del sistema del cultivo arroz de secano.

### AGRADECIMIENTO

Al agricultor Marcos Diamont por su apoyo y por haber facilitado la Unidad de Producción para desarrollar los experimentos.

### BIBLIOGRAFÍA

- Bufogle, A. jr., P. K. Bolleck, J. L. Kovar, R. E. Macchianelli and C. W. Lindaw. 1997. Rice variety differences in dry matter and nitrogen accumulation as related to plant stature and maturity group. *J. Plant Nutr.* 20:1 203-1 224.
- Carrillo de Cori, C. E., E. Casanova y G. Rico. 1992. Balance de Nitrógeno en arroz de riego en un vertisol del estado Guárico. *Agronomía Trop.* 42:67-84.
- Craswell, E. T. and D. C. Godwin. 1984. The efficiency of nitrogen fertilizers applied to cereals grown in different climates. **In:** Tinker P.B. Lauchli A: (Eds.) *Advances in Plant Nutrition* 1:1-56.
- Comerma, J. 2009. Suelos mal drenados en Venezuela. *Agronomía Trop.* 59(1):25-32.
- FAO. 2004. FAOSTAT. Consultado en: [www.fao.org.com](http://www.fao.org.com). Disponible en línea: agosto 2009.
- Giambalvo, D., P. Ruisi and G. Di Micelli. 2010. Nitrogen use efficiency and nitrogen fertilizer recovery of durum wheat genotypes as affected by interspecific competition. *Agron. J.* 102(2):707-715.
- Gilabert de Brito, J., I. López de Rojas y R. Roberti. 1990. Análisis de suelo para diagnóstico de fertilidad. **In:** Manual de métodos y procedimientos de referencia. FONAIAP-CENIAP. Maracay. Cap.4.1-5.1 (Serie. D.Nº 26).
- IAEA. 2001. Use of isotope and radiation methos in soil and water management and crop nutrition, Vienna. IAEA-TCS-14.
- INFOSTAT. 2004. Infostat versión 1 2004 grupo infostat, F C.A, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 200 p.
- Kjeldahl, J. 1983. A new method for the determination of nitrogen organic matter. 2. *Analytical Chemistry* 366 p.
- Rey, J. C. 2002. Informe caracterización de suelos experimentales ubicados en el municipio Francisco de Miranda, estado Guárico. INIA-Guarico 6 p.
- Samonte, S. O. P. B., L. T. Wilson, J. C. Medley, S. R. M. Pinson, A. M. McClung and J. S. Lales. 2006.

Nitrogen utilization efficiency: Relationships with grain yield, grain protein and yield-related traits rice. *Agron. J.* 98:168-176.

Sanabria D., T. Rodríguez, F. Barreto y A. Torres. 1999. Arroz de secano: otra alternativa evaluada por FONAIAP para la diversificación de la producción en los Llanos Orientales de Venezuela. Consultado en: [www.ceniap.gob.ve/publica/divulga](http://www.ceniap.gob.ve/publica/divulga).

Timsina J., U. Singh, M. Badaruddin, C. Meisner and M. R. Amin. 2001. Cultivar, nitrogen, and water effects on productivity and nitrogen-use efficiency and balance for rice-wheat sequences of Bangladesh. *Field Crop. Res.* 72:143-161.

Tirol-Padre, A., J. K. Ladha, U. Singh, E. Laureles, G. Punzalan and S. Akita. 1996. Grain yield performance of rice genotypes at sub optimal levels of soil N as affected by N uptake and utilization efficiency. *Field Crop. Res.* 46:127-143.

Urquiaga, S. y F. Zapata. 2000. Manejo eficiente de la fertilización nitrogenada de cultivos anuales en América Latina y el Caribe. Porto Alegre; Génesis; Río de Janeiro. EMBRAPA Agrobiología 110 p.

Worku, M., M. Banziger, G. S. A. Ealey, D. Friesen, A. O. Diallo and W. J. Horst. 2007. Nitrogen uptake and utilization in contrasting nitrogen efficient tropical Maize hybrids. *Crop Sci.* 47:519-527.

## CAPACIDAD DE CRECIMIENTO DE *Crotalaria juncea* L. EN CONDICIONES DE DEFICIENCIA DE FÓSFORO

### CAPACITY OF GROWTH OF *Crotalaria juncea* L. IN CONDITIONS PHOSPHORUS DEFICIENCY

Giovanna F. Santana M.\* y Jocelyne Ascencio\*

\*Profesoras. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía.  
Instituto de Botánica Agrícola. Maracay, Aragua. Venezuela.2101.

Correo electrónico: santanagiovanna@gmail.com; jocelyneascencio@hotmail.com

#### RESUMEN

*Crotalaria juncea* L. es un importante cultivo de cobertura en condiciones de suelos marginales, especialmente en los países tropicales, la especie ha sido reportada como una planta con capacidad de crecer en suelos deficientes en P. Con el objetivo de investigar algunas respuestas de crecimiento bajo la deficiencia de P, las plantas se cultivaron en macetas de 900 ml llenas de solución nutritiva de Hoagland 2, con aireación artificial. El experimento se llevó a cabo en diseño completamente al azar, con dos tratamientos de fósforo (+P = 0,86 + mMPy -P = 0,004 mMP) con 48 repeticiones. Las plantas se cosecharon a los 15, 20, 25 y 30 días de edad para determinar la biomasa seca, relación tallo / raíz, área foliar (ÁF) total, longitud de la raíz (total y específica), P inorgánico soluble (hoja), P total ( $P_{total}$ ), también se determinó la absorción de P (PAE), el índice de distribución de P y el uso eficiente P (PUE). Los resultados, indican una reducción de 61,3% ÁF, 61,74% en la biomasa aérea seca y 50,19% de la biomasa de raíz seca después de la reducción de  $P_i$  soluble hoja y  $P_{total}$  bajo -P. Por otra parte, a los 20 días de edad de la longitud de la raíz aumentó en -P, y eran más grandes (2,44 veces) en comparación con las plantas +P. En condiciones deficientes de P, las plantas mostraron una alta absorción de P y el uso eficiente de los P. Estos resultados sugieren que esta especie combina estrategias morfológicas y fisiológicas que contribuyen a la tolerancia por deficiencia de P.

**Palabras Clave:** *Crotalaria juncea* L.; eficiencia de fósforo; soluciones nutritivas; tolerancia.

#### SUMMARY

*Crotalaria juncea* L. is an important cover crop under marginal soils conditions particularly in tropical countries, the species has been reported as a plant with ability of growing with deficient P soils. With the objective of investigating some growth responses under P deficiency, plants were cultivated in pots 900 ml filled with nutrient solution Hoagland 2, with aeration artificial. The experiment was conducted in desing completely randomized, with two phosphorus treatments (+P = 0,86 mMP and -P = 0,004 mMP) with 48 repeats. Plants were harvested at 15, 20, 25 and 30 days of age for determine dry biomass, relation shoot/root, total leaf area, root length (total and specific), soluble P inorganic (leaf), total P, also were determined the absorption of P (PAE), distribution index of P and use efficiency P (PUE). According to the results, were observed a reductions 61,3% leaf area, 61,74% in dry shoot biomass, and 50,19% in dry root biomass following reductions in leaf soluble  $P_i$  and total P under -P. On the other hand, at 20 days of age the root length increased in -P, and were larger (2,44 times) as compared to the +P plants. Under deficient phosphorus conditions, the plants showed high P absorption and use efficient P. These results suggest that this species combines morphological and physiological strategies that contribute to the tolerance to phosphorus deficiency.

**Key Words:** *Crotalaria juncea* L.; nutrient solution; P-efficiency; tolerance.

## INTRODUCCIÓN

Resulta ampliamente documentado que el fósforo (P) es uno de los macro nutrientes más limitantes para el crecimiento de las plantas en el trópico, porque la concentración de la fracción soluble ( $P_i$ ) en la solución del suelo es baja (cerca a los 10  $\mu\text{M}$ ), según lo descrito por Navarro y Navarro, 2000 y Casanova, 2005; razón por la cual la producción de cultivos agrícolas está asociada al uso de fertilizantes fosfatados que son costosos, provienen de fuentes agotables y en su mayoría (entre el 70 y 90%) terminan asociados a compuestos orgánicos e inorgánicos en el suelo (Casanova, 2005).

La *Crotalaria juncea* L. es una planta anual de la familia Fabaceae, originaria de la India y considerada como la más importante de su género, abarca alrededor de 350 especies entre trópico y subtropico (Cook y White, 1996). La incorporación de los residuos de esta especie al suelo no sólo mejora las condiciones físicas, sino también las condiciones químicas, por medio de la fijación biológica de nitrógeno (Rivero, 1995; Bravo y Florentino, 1999; Fernández y Ortega, 2002; López *et al.*, 2006).

Lo anterior refleja que esta planta podría ser utilizada bajo condiciones de manejo de agricultura integral sustentable. Dado que un gran porcentaje de los suelos venezolanos son ácidos, incluyendo las zonas de producción agrícola y zonas naturales donde crece esta especie. Es importante estudiar las respuestas fisiológicas de estas plantas bajo condiciones de suplencia limitada de P.

La deficiencia de P se manifiesta como un síndrome de estrés, donde se activan diversas estrategias de carácter morfológico, fisiológico y metabólico, que permiten a las plantas sobrevivir por un período de tiempo determinado, hasta alcanzar la floración. En el laboratorio se realizaron estudios sobre las estrategias de crecimiento bajo condiciones de deficiencia de P, tanto en plantas cultivadas como potencialmente cultivables (Ascencio y Lazo, 1997; Briceño, 2001; Ferrarotto, 2009), igualmente, en la bibliografía existen muchos trabajos donde se demuestra que en efecto el síndrome del estrés por deficiencia de P lo presentan un gran número de especies. En este sentido, cabe mencionar los trabajos de Hammond *et al.*, 2004; Lambers *et al.* 2006; Bernal *et al.*, 2007; Oosterhuis *et al.*, 2008; Lynch, 2011.

Sin embargo, aunque la *Crotalaria* se ha venido utilizando en la agricultura durante los últimos años, son muy pocos los estudios que permiten determinar el efecto del estrés por deficiencia de P sobre la fisiología de esta planta, entre

ellos se puede citar a Cordero *et al.*, 2005; Ferrarotto y Ascencio, 2007; Ferrarotto, 2009.

Basado en estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo fue investigar algunas respuestas de crecimiento que podrían explicar la sobrevivencia de *Crotalaria juncea* L. bajo condiciones de suplencia limitada de P en soluciones nutritivas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo entre agosto y diciembre del año 2010, en el Laboratorio de Metabolismo, Fisiología de Malezas y Cultivos Tropicales, Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Instituto de Botánica Agrícola, Maracay, estado Aragua.

### Manejo del ensayo

Se utilizaron semillas de *Crotalaria juncea* L., provenientes del estado Cojedes (donde crece en forma silvestre y cultivada en suelos ácidos y oligotróficos), desinfectadas con Vitavax® y germinadas en envases de 480 ml con arena lavada, descarbonatada con HCl a 2% y desinfectada con calor. El riego se realizó tres veces por semana con agua destilada, hasta lograr plantas homogéneas con dos hojas completamente expandidas, posteriormente se transfirieron individualmente a envases de 900 ml con las soluciones nutritivas deficientes y suficientes en P, conectados a bombas de acuario por medio de una red de manguerillas de plástico flexible.

La composición química de la solución nutritiva, base empleada en el ensayo fue la siguiente: 15 mM de N; 6,0 mM de K; 5 mM de Ca; 2 mM de Mg; 2 mM de S; 0,11 mM de Fe; 0,05 mM de B; 0,01 mM de Mn; 0,0003 mM de Cu; 0,0007 mM de Zn; 0,0001 mM de Mo, existiendo una única variación en la concentración de P proveniente de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , de 0,004 mM para deficiencia (-P) y 0,86 mM de P para suficiencia (+P), las soluciones se reemplazaron cada 5 d.

### Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con dos tratamientos en la solución nutritiva: +P = 0,86 mMP (suficiencia) y -P = 0,004 mMP (deficiencia), con 48 repeticiones. El nivel de referencia -P se estableció tomando como base un ensayo preliminar y a lo propuesto por Ferrarotto y Ascencio (2007). Se realizaron muestreos de 12 plantas por tratamiento a los 15, 20, 25 y 30 d de

edad, la unidad experimental estuvo conformada por una planta en un envase.

### Determinaciones de área foliar, pesos secos y longitud radical

De las 12 plantas cosechadas por tratamiento en cada muestreo, se tomaron nueve para determinaciones de área foliar (ÁF) y pesos secos. En las determinaciones de ÁF se utilizó un medidor fotoeléctrico Hayashi Denkott modelo AAM-7 y el peso de hojas, raíces y tallos obtenidos después del secado en estufa a 70 °C por 48 h, fue determinado en balanza analítica marca Satorius, modelo 2462.

Con las tres plantas restantes se realizaron las mediciones de longitud radical total ( $LR_{total}$ ), siguiendo el método de las intersecciones de Tennant (1975), y con los valores obtenidos de  $LR_{total}$  se calculó la longitud radical específica (LRE), como la relación  $LR_{total}$ /peso seco de raíces.

### Determinaciones de Pi soluble foliar y fósforo total

El contenido de Pi soluble (metabólico) foliar, se determinó por triplicado para todas las edades de muestreo, en discos frescos de hojas macerados en ácido acético al 2%. Después de incubar el macerado por 30 min, se centrifugó a 10 000 rpm a 4 °C durante 10 min, el sobrenadante se utilizó para la determinación de Pi, según metodología de Fiske Subarrow (1925) modificado por Cooper (1979). La concentración de P inorgánico soluble se expresó en  $\mu\text{g Pi g}^{-1}$  de peso fresco de hojas.

Para el P total ( $P_{total}$ ) se utilizaron tres muestras compuestas del biomasa seca de órganos de tres plantas de 35 d de edad que fue molido en malla 40. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Química Analítica del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) y el contenido de  $P_{total}$  se expresó en mg P en la materia seca.

### Eficiencia de fósforo

La eficiencia de absorción y de uso del P se calcularon en base al criterio de Ascencio y Lazo (2001), con modificaciones empleando las relaciones siguientes:

- Eficiencia de absorción de P (EAP) como los miligramos de  $P_{total}$  en la biomasa aérea (hojas + tallo) por metro de longitud radical y miligramos de P contenido en la solución nutritiva.

- Eficiencia de uso de P (EUP) como los gramos de biomasa seca aérea por miligramo de  $P_{total}$  en la planta completa.
- Índice de distribución de P (IDP) como la relación entre miligramos de  $P_{total}$  en hojas y los miligramos de  $P_{total}$  en raíces.

### Análisis estadísticos de los resultados

Se empleó la prueba de t-Student ( $\alpha = 0,05$ ) para determinar diferencias debidas a los tratamientos y la estadística descriptiva, para poder observar la variabilidad dentro de un mismo tratamiento.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se observa el aspecto general de las plantas de *Crotalaria juncea* L. de 30 d de edad, obtenidas bajo deficiencia y suficiencia de P. El efecto de la deficiencia sobre *Crotalaria* se manifestó por una baja acumulación del biomasa seca total de las plantas, pero el parámetro más afectado fue el ÁF, con reducciones de 60,5% y 61,3% a los 25 y 30 d de edad (Cuadro 1). Grandes reducciones para el ÁF fueron encontradas por Cordero *et al.* (2005) y Oosterhuis *et al.* (2008) en *C. spectabilis* y *Gossypium hirsutum*, así como en plantas como *Ruellia Tuberosa*, *Euphorbia heterophylla* (Ascencio y Lazo, 1997), *Lycopersicum esculentum* (Briceño, 2001) y *Phaseolus vulgaris* (Bernal *et al.*, 2007).



**FIGURA 1.** Plantas de *Crotalaria juncea* L. de 30 d de edad, obtenidas bajo suficiencia (izquierda) y deficiencia de fósforo (derecha).

**CUADRO 1.** Valores promedio del número de hojas y área foliar (cm<sup>2</sup>) de plantas de *Crotalaria juncea* L., a cuatro edades de muestreo, bajo condiciones de deficiencia y suficiencia de fósforo.

Edad (días)	Tratamiento	N° hojas	P <sub>α=0,05</sub>	AF <sub>total</sub> (cm <sup>2</sup> )	P <sub>α=0,05</sub>
15	(-P)	3,0 ± 1,0	0,3129	7,65 ± 2,76	0,1451
	(+P)	3,0 ± 1,0		9,41 ± 4,08	
20	(-P)	8,0 ± 1,0	0,0491*	39,21 ± 12,10	0,3049
	(+P)	9,0 ± 1,1		49,2 ± 14,6	
25	(-P)	13,0 ± 2,0	0,3234	90,46 ± 23,74	0,0353*
	(+P)	17,0 ± 2,0		228,92 ± 46,99	
30	(-P)	16,0 ± 1,0	0,0004***	111,40 ± 19,33	0,0000***
	(+P)	22,0 ± 5,0		288,22 ± 102,63	

(-P) = 0,004 mMP; (+P) = 0,86 mMP; P<sub>α=0,05</sub> = probabilidad a 5%; n = 9. Prueba de t; \*-\*\*\* = Diferencias significativas.

Esta respuesta bajo deficiencia, podría ser el resultado de una alteración de la división y elongación celular (Kavanová *et al.*, 2006), lo cual afecta la expansión foliar y el número de hojas (Ascencio, 1996; Ascencio y Lazo, 1997). Sin embargo, aunque en -P se reportaron los valores más pequeños de ÁF, las disminuciones en el número de hojas fueron de 23,50% y 27,3% a los 25 y 30 d de edad, sin obtener diferencias significativas (Cuadro 1).

Mediante la condición -P se observaron reducciones en la acumulación de la biomasa, lo que se refleja en los valores de PS<sub>total</sub> tal como se demuestra en el Cuadro 2. Lo anterior es una respuesta muy común en plantas cultivadas y no cultivadas, como *Desmodium tortuosum* y *Cajanus cajan*s (Ascencio, 1996; Ascencio y Lazo, 2001); *Ruellia tuberosa* y *Euphorbia heterophylla* (Ascencio y Lazo, 1997); *L. esculentum* (Briceño, 2001); *P. vulgaris* (Ascencio y Lazo, 2001; Bernal *et al.*, 2007); *G. hirsutum* L. (Oosterhuis *et al.*, 2008) y podría estar asociada con las disminuciones del ÁF, que a su vez generan diferencias en las tasas fotosintéticas (Ascencio, 1996).

En un ensayo preliminar realizado para el presente trabajo, se cuantificaron tasas de fotosíntesis de 41 y 30 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> AF h<sup>-1</sup> en +P y -P, respectivamente.

Los porcentajes de reducción de biomasa seca en el vástago, al comparar -P con +P fueron de 13,29% a los 15 d, 33,85% a los 20 d; 52,67% a los 25 d y 61,74% a los 30 d. A excepción de lo observado en el muestreo a los 15 d, los valores de PS<sub>vástago</sub> se redujeron más que el

de PS<sub>RAÍCES</sub> (Cuadro 2), lo cual concuerda con lo reportado por Ascencio y Lazo (1997); Briceño (2001); López-Bucio (2003); Fragoso *et al.* (2005); Bernal *et al.* (2007) en las plantas de nabo, yuquilla, Euphorbia, tomate, soya y caraota.

La deficiencia de P limita el desarrollo de la parte aérea de las plantas para favorecer el desarrollo de las raíces (Fragoso *et al.*, 2005). Sin embargo, aunque en el presente estudio no se observaron aumentos en biomasa seca de raíces bajo condiciones de deficiencia (-P), sí se detectaron disminuciones de la relación vástago/raíz (Cuadro 2), siendo considerado como parte de una estrategia morfológica que le permite a las plantas escapar a la deficiencia de P, tal como ocurre en otras leguminosas *Arachis pintoi* (Watanabe *et al.*, 2006); *P. vulgaris* (Parra *et al.*, 2004; Bernal *et al.*, 2007); *C. cajan*s y *D. tortosum* (Ascencio, 1996). Aunque los resultados obtenidos indican que no siempre existe aumento de la biomasa radical en -P, las raíces de *C. juncea* L. parecieron haber continuado su crecimiento a expensas del vástago.

En cuanto a la longitud total de raíces en -P fueron más largas que en +P durante los dos primeros muestreos, a los 15 y 20 d (Cuadro 3), siendo más acentuada la diferencia a los 20 d, con un incremento en más del doble (2,44 veces) y con valores más elevados de LRE (19 861 cm mg<sup>-1</sup> en -P y 12 016 cm mg<sup>-1</sup> en +P). Por lo tanto, es un indicio de que en ese momento las raíces de *Crotalaria* fueron más largas y delgadas en -P que en +P (Cuadro 3), representando una estrategia importante para acceder el P del sustrato.

**CUADRO 2.** Pesos secos (PS) (mg) de plantas de *Crotalaria juncea* L. bajo tratamiento suficiente y deficiente de fósforo a cuatro edades de muestreo. Valores promedios y coeficiente de variación.

Edad (días)	Trat.	PS <sub>hojas</sub>	P <sub>α=0,05</sub>	PS <sub>tallo</sub>	P <sub>α=0,05</sub>	PS <sub>raíz</sub>	P <sub>α=0,05</sub>	PS <sub>total</sub>	P <sub>α=0,05</sub>	Vástago/raíz	P <sub>α=0,05</sub>
15	(-P)	13,2 ± 3,2	0,0728	10,4 ± 2,0	0,1077	7,4 ± 2,1	0,0069**	31,0 ± 4,6	0,0921	3,4 ± 0,9	0,4111
	(+P)	14,5 ± 5,5		12,7 ± 3,3		14,5 ± 5,5		41,74 ± 12,88		1,9 ± 0,3	
20	(-P)	57,1 ± 19,4	0,0823	26,5 ± 8,9	0,0741	26,6 ± 10,6	0,3442	110,3 ± 35,5	0,1841	3,4 ± 0,9	0,0074**
	(+P)	86,9 ± 32,5		39,5 ± 15,2		30,2 ± 9,1		156,7 ± 49,5		4,3 ± 0,9	
25	(-P)	232,5 ± 69,6	0,2064	131,0 ± 38,7	0,0792	144,8 ± 45,3	0,3980	508,3 ± 147,5	0,2504	2,6 ± 0,5	0,4377
	(+P)	486,9 ± 94,1		259,4 ± 65,5		185,3 ± 41,2		931,5 ± 188,8		4,1 ± 0,5	
30	(-P)	280,5 ± 43,9	0,0004***	164,6 ± 34,4	0,0000***	193,5 ± 36,9	0,0004***	638,6 ± 104,7	0,0001***	2,3 ± 0,35	0,0520
	(+P)	671,1 ± 172,1		422,6 ± 188,8		388,5 ± 145,7		1 482,2 ± 474,0		2,9 ± 0,6	

-P = 0,004 mM P; +P = 0,86 mM P; P: α = 0,05 = probabilidad al 5%, n = 9. Prueba de t; \*\* - \*\*\* = Diferencias significativas.

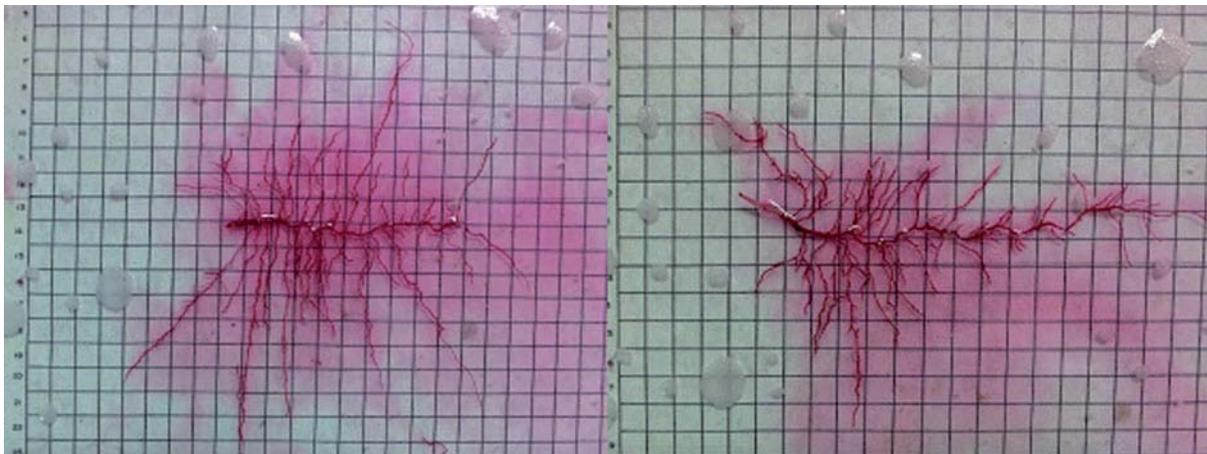
**CUADRO 3.** Valores promedios y coeficiente de variación de la longitud radical total y longitud radical específica de plantas de *Crotalaria juncea* a diferentes edades bajo condiciones de deficiencia y suficiencia de fósforo.

Edad (días)	Trat.	LR <sub>total</sub> (cm)	P <sub><math>\alpha=0,05</math></sub>	LRE (cm/mg)	P <sub><math>\alpha=0,05</math></sub>
15	(-P)	133,5 ± 38,9	0,4353	26 191 ± 3 406,5	0,3598
	(+P)	117,6 ± 34,2		20 478 ± 4 544,4	
20	(-P)	335,7 ± 12,3	0,0275*	19 861 ± 4 582,9	0,1698
	(+P)	137,5 ± 73,1		12 016 ± 2 072,4	
25	(-P)	1 153,4 ± 177,73	0,1801	13 844 ± 3 565,6	0,4775
	(+P)	1 434,5 ± 379,24		15 680 ± 3 730,0	
30	(-P)	1 648,2 ± 55,837	0,2801	14 496 ± 2 570,3	0,2901
	(+P)	1 787,8 ± 401,95		15 278 ± 4 020,8	

(-P)= 0,004 mMP; (+P)= 0,86 mMP; P <sub>$\alpha=0,05$</sub> = probabilidad al 5 %; n= 3. Prueba de t; \*Diferencia significativa.

Shen *et al.* (2003) reportaron resultados similares en *Lupinus albus* donde LRE se incrementó rápidamente desde 17 m g<sup>-1</sup> a 28 m g<sup>-1</sup> a los 40 d bajo condición -P. Además, las observaciones realizadas en este trabajo permitieron conocer que bajo deficiencia de P parece ocurrir un alargamiento de las raíces secundarias superficiales (Figura 2), tal como reportaron Friesen *et al.* (1997) para algunas leguminosas de 38 a 42% de las raíces, se encontraron en los primeros 10 cm en un suelo oxisol con deficiencia de P.

A los 25 y 30 d de edad, la reducciones de la LR<sub>total</sub> en -P fueron 19% (de 1 434,5 en +P a 1 153,4 cm en -P) y 7,81% (1 787,8 en +P a 1 648,2 en -P), las cuales no pueden ser consideradas como reducciones mayores (Cuadro 3). Esta respuesta difiere con lo observado en *L. esculentum* a 21 d bajo estrés -P (García y Ascencio, 1992), *D. tortuosum* (Ascencio, 1996) y otras plantas silvestres, como *Euphorbia heterophylla* y *Ruellia tuberosa* (Ascencio y lazo, 1997), donde la deficiencia de P redujo significativamente la LR<sub>total</sub>.



**FIGURA 2.** Aspecto general de algunas raíces de *Crotalaria* de 15 días de edad. A: raíces obtenidas en +P; B: raíces obtenidas de -P.

Estos resultados parecen indicar que las raíces de *Crotalaria* podrían alargarse en las etapas tempranas del crecimiento vegetativo de la planta, esto podría formar parte del desarrollo de una estrategia para sobrevivir a la deficiencia de P, favoreciendo los medios de acceso a este nutrimento, además se estaría confirmando que las respuestas al estrés dependen de la edad de las plantas.

Por consiguiente, esta estrategia podría contribuir a mejorar la eficiencia de absorción de los nutrimentos desde la rizósfera en sustratos con suplencia limitada. También, Watanabe *et al.* (2006) encontraron que bajo condiciones de deficiencia de P, los contenidos de P<sub>total</sub> en hojas y raíces de plantas forrajeras disminuyeron drásticamente, pero la estimulación del alargamiento de raíces hizo posible el mantenimiento de un estatus mínimo de P dentro de la planta para el cumplimiento de sus funciones vitales.

Por otra parte, se observaron los valores más bajos de P<sub>total</sub> en todos los órganos cuando las plantas crecieron bajo deficiencia, con reducciones significativas en el vástago (Cuadro 4), así como del Pi soluble en las hojas. Para este último se encontraron valores inconsistentes a los 20 d de edad, pero la tendencia fue a disminuir a medida que transcurrió el tiempo en deficiencia (Cuadro 5). El Pi soluble está involucrado en las reacciones metabólicas de las plantas, por lo que la respuesta anterior permite suponer que bajo estas condiciones estresantes ocurre una redistribución del P desde el vástago hacia las raíces, disminuyendo la cantidad relativa de biomasa seca del vástago.

**CUADRO 4.** Contenido de fósforo total en plantas de *Crotalaria* de 30 días de edad, bajo condiciones de deficiencia (-P) y suficiencia (+P) de fósforo.

Trat.	(mg P en MS)			
	Hojas	Tallos	Raíces	Planta completa
(-P)	0,22 ± 0,03	0,11 ± 0,004	0,23 ± 0,02	0,56 ± 0,05
(+P)	5,52 ± 1,14	2,52 ± 0,62	4,48 ± 2,97	12,52 ± 4,26

(-P) = 0,004 mMP; (+P) = 0,86 Mmp; n = 9 plantas.

**CUADRO 5.** Variación de la concentración foliar de Pi ( $\mu\text{g Pi/cm}^2$ ) en *Crotalaria juncea* L. en función a la edad de las plantas bajo condiciones de deficiencia y suficiencia de fósforo.

Edad (días)	$\mu\text{g Pi/cm}^2$ de área foliar	
	(-P)	(+P)
15	14,011 ± 1,70	23,665 ± 5,824
20	25,588 ± 1,842	38,808 ± 4,826
25	11,100 ± 0,855	19,307 ± 1,895
30	9,089 ± 0,104	18,548 ± 3,615

(-P) = 0,004 mMP; (+P) = 0,86 Mmp. n = 3 plantas.

La capacidad que muestran las plantas para crecer en un medio con bajo contenido de P depende tanto de la eficiencia del uso como de la eficiencia de absorción de dicho elemento (Marschner, 1995). En este sentido, aunque en este trabajo las raíces de *C. juncea* de 30 d no mostraron diferencias significativas en LR<sub>total</sub>, la EAP aumentó en gran medida (9,4 veces) bajo la condición -P (Cuadro 6), indicando que las plantas estresadas lograron absorber más P por longitud de raíces a partir de la solución nutritiva -P.

Lo anterior estaría sugiriendo la activación de otras estrategias fisiológicas que contribuirían a la absorción del P desde la rizósfera.

Del mismo modo, se observó un aumento de casi nueve veces en la EUP bajo la condición -P (Cuadro 6), lo cual indica que en comparación con las plantas en +P, las plantas bajo estrés producen mayor cantidad de materia seca aérea por cada miligramo de P<sub>total</sub> presente en los tejidos, esta es otra de las estrategias para la sobrevivencia ante la deficiencia de P.

Lo anterior coincide con Briceño (2001) en tomate y Cordero *et al.* (2005) en *C. spectabilis*. Al mismo tiempo, Ascencio y Lazo (2001) demostraron en plantas de frijol cultivadas en soluciones nutritivas con una fuente de P poco soluble (Ca -P), una baja EAP y alta EUP combinación deseable en condiciones de suelos marginales.

**CUADRO 6.** Índices de eficiencia de fósforo en plantas de *Crotalaria* de 30 días de edad bajo condiciones de deficiencia (-P) y suficiencia (+P) de fósforo.

Tratamiento	EAP (mg P en PA. m <sup>-1</sup> l raíces Mg P <sup>-1</sup> en solución)	EUP (g de peso seco PA mg <sup>-1</sup> P en la planta)	IDP (mg P hojas/mg P raíz)
(-P)	2 000,12	0,78	0,94
(+P)	212,51	0,09	1,32

(-P)= 0,004 mMP; (+P)= 0,86 mMP; PA: Parte aérea; L: longitud  
n=9 plantas

Finalmente, las plantas de *C. juncea* L. bajo deficiencia de P muestran menor acumulación de biomasa seca y valores menores de la relación vástago/raíz. Las diferencias en LR<sub>total</sub> debidas a la deficiencia fueron máximas hasta los 20 d de edad, asimismo, el contenido de P<sub>total</sub> en los órganos y el P soluble foliar siempre fueron menores en plantas -P, por lo que la capacidad de *C. juncea* L. de sobrevivir en suelos marginales bajo condiciones de suplencia limitada de P está en gran parte asociada a la alta eficiencia en la absorción y en el uso interno del P.

### CONCLUSIÓN

- La baja suplencia de P ocasionó reducciones en el contenido de P soluble foliar y P<sub>total</sub> en los tejidos de las plantas, conllevando a disminuciones en la biomasa seca, ÁF y relación del peso seco vástago/raíz que se hacen más evidentes a partir de los 25 d de edad. Bajo estas condiciones se estimula del alargamiento de raíces cercanas a la superficie del suelo en todas las edades de muestreo, pero la mayor longitud radical total ocurrió solo en los estados más tempranos del crecimiento, haciéndose más acentuada a los 20 d.
- Bajo suplencia limitada, los valores de la EAP y la EUP estuvieron muy por encima que la obtenida en plantas +P.
- Las plantas de *C. juncea* L. bajo condiciones de este estudio, mostraron estrategias fisiológicas asociadas con el crecimiento de la planta y la morfología radical, lo que sugiere que esta especie posee mecanismos que le permiten sobrevivir bajo condiciones de deficiencia de P.

### BIBLIOGRAFÍA

- Ascencio, J. 1996. Growth strategies and utilization of phosphorus in *Cajanus cajan* L. Millsp. and *Desmodium tortuosum* (Sw) DC under phosphorus deficiency. Commun. Soil SCI. Plant Anal. (27):1971-1993.
- Ascencio, J. y J. V. Lazo. 2001. Crecimiento y eficiencia de fósforo de algunas leguminosas cultivadas en arena regada con soluciones nutritivas con fosfatos inorgánicos de hierro y de calcio. Rev. Fac. Agron. (LUZ). (18):13-32.
- Ascencio J. and J. V. Lazo. 1997. Growth evaluation during the vegetative phase of dicotyledonous weeds and under phosphorus deficiency. J. Plant Nut. (20):27-45.
- Bernal, L., P. Coello, J. Acosta y E. Martínez. 2007. Efecto de la deficiencia de fósforo en el metabolismo de carbono de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris*). Agrociencia. (41):417-423.
- Bravo, C. y A. Florentino. 1999. Efecto de diferentes sistemas de labranza sobre las propiedades físicas del suelo y su influencia sobre el rendimiento del Algodón. Bioagro. (9):67-75.
- Briceño, Z. 2001. Estudio de algunas respuestas fisiológicas y Bioquímicas de *Lycopersicon esculentum* Mill var. Río Grande bajo condiciones de deficiencia y suficiencia de fósforo. Tesis de maestría. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía 117 p.
- Casanova, E. 2005. Introducción a la Ciencia del Suelo. CDCH. Universidad Central de Venezuela 482 p.

- Cook, C. and G. White. 1996. *Crotalaria juncea*: A potential multi-purpose fiber crop. **In:** J. Janick (ed.), Progress in new crops. 389-394 pp. [Disponible en línea, 25/07/2009]: <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1996/v3-389.html>
- Cooper, G. 1979. The tools of biochemistry. Chapter 2: Spectrophotometry. Determination of inorganic phosphate. Wiley. Interscience Publication. New York 423 p.
- Cordero, Y., Z. Briceño y J. Ascencio. 2005. Respuestas fisiológicas de *Crotalaria spectabilis* Roth cultivada en solución nutritiva deficiente y suficiente en fósforo. *Anales de Botánica Agrícola* (12):19-30.
- Fernandez, N. y L. Ortega. 2002. Efecto de la edad de incorporación de dos abonos verdes sobre algunas propiedades del suelo y el rendimiento del rábano (*Raphanus sativus*). *Venesuelos* (10):18-31.
- Ferrarotto, M. 2009. Morfología del sistema radical de *Crotalaria juncea* L. (Fabaceae) y su capacidad de solubilización de fósforo en condiciones de suplencia limitada en soluciones nutritivas. Tesis doctoral. Doctorado en Ciencias Agrícolas. Maracay, Ven. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía 225 p.
- Ferrarotto, M. y J. Ascencio. 2007. Determinación de niveles de referencia de fósforo en plantas de *Crotalaria juncea* L. XVII Con. Ven. Bot. 636-639 pp.
- Fragoso, S., E. Martínez, S. Vásquez, J. Acosta y P. Coello. 2005. Respuesta de la Soya (*Glyxine max*) a la deficiencia de fosfato. *Agrociencia* (39):303-310.
- Friesen, D., I. M Rao, R. Thomas, A. Oberson and J. Sanz. 1997. Phosphorus acquisition and cycling in crop and pasture in low fertility tropical soils. T. Ando *et al.* (Edit), Plant nutrition-for sustainable food production and environment 493-498 pp.
- García, M. and J. Ascencio. 1992. Root morphology and acid phosphatase activity in Tomato plants during development of and recovery from phosphorus stress. *J. Plant Nut.* (15):2.491-2.503.
- Hammond, J., M. Broadley and P. White. 2004. Genetic Responses to Phosphorus Deficiency. *Annals of Botany* (94):323-32.
- Kavanová, M., F. Lattanzi, A. Grimoldi, and H. Schnyder. 2006. Phosphorus deficiency decreases cell division and elongation in grass leaves. *Plant Physiol* (141):766-775.
- Lambers, H., M. Shane, M. Cramer, S. Pearse and E. Veneklaas. 2006. Root Structure and Functioning for Efficient Acquisition of Phosphorus: Matching morphological and Physiological Traits. *An. Bot.* (98):693-713.
- Lynch, J. 2011. Root phenes for enhanced soil exploration and phosphorus acquisition: Tools for future crops. *Plant physiol* (156):1 041-1 049.
- López, M., N. Alfonso, A. Florentino y M. Pérez. 2006. Dinámica del fósforo y reducción del aluminio intercambiable en un ultisol sometido a manejo conservacionista. *INCI.* (31):293-299.
- López-Bucio, J., A. Cruz and L. Herrera. 2003. The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Curr. Op. Plant Biol.* (6):1-8 pp.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. London: Academic Press. Second edition 889 p.
- Navarro, S. y G. Navarro. 2000. Química agrícola. El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal. Ediciones Mundi-Prensa 488 p.
- Oosterhuis, D., A. Bibi, E. Gonias and M. Mozaffari. 2008. Cotton growth and physiological responses to phosphorus deficiency. Wayne E. Sabbe Arkansas Soil Fertility Studies.
- Parra, C., E. Martínez, J. Acosta y P. Coello. 2004. Respuesta a la deficiencia de fosfato de genotipos de frijol contrastantes en su capacidad de crecer en suelos con bajo contenido de fósforo. *Agrociencia* (38):131-139.
- Rivero, C. 1995. Efecto de la incorporación de residuos orgánicos sobre algunas propiedades de un alfisol degradado. *Venesuelos* (3):55-61.
- Shen, J., Z. Rengel, C. Tang and F. Zhang. 2003. Role of phosphorous nutrition in development of cluster roots and release of carboxylates in soil-grown *Lupinus albus*. *Plant and Soil* (248):199-206.

Tennant, D. 1975. A test of modified line intersect method of estimating root length. *J. Ecology* (63):995-1.006.

Watanabe, O., M. Osaki, H. Yano and I. Rao. 2006. Internal Mechanisms of Plant Adaptation to Aluminum Toxicity and Phosphorus Starvation in Three Tropical Forages. *Journal of Plant Nutrition* (29):1 243-1 255.

## CONTENIDO DE LÍPIDOS, ÁCIDOS GRASOS, EXOPOLISACÁRIDOS Y MINERALES DE *Arthrospira maxima* CULTIVADA EN FOTOBIOREACTORES<sup>1</sup>

## CONTENTS OF LIPID, FATTY ACIDS, EXOPOLYSACCHARIDES AND MINERALS OF *Arthrospira maxima* CULTIVATED IN PHOTOBIOREACTORS<sup>1</sup>

Lolymar Romero Maza\*, Miguel Guevara\*\*, Bertha Arredondo-Vega\*\*\*, Bladimir Gómez\*, Berenice Licett\*\*\*\* y Luis Freites\*\*

<sup>1</sup>Trabajo financiado por el Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente. Bajo el Proyecto CI.-2-030603-1282/06.  
\*Estudiantes de Postgrado en Ciencias Marinas y \*\*Profesor. Universidad de Oriente. Instituto Oceanográfico de Venezuela.  
\*\*\*Investigadora. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. (CIBNOR), Baja California. México.  
\*\*\*\*Investigadora. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA Sucre). Venezuela.  
Correo electrónico: miguevara2003@yahoo.es

### RESUMEN

Esta investigación planteó la evaluación de la composición bioquímica de la biomasa de *Arthrospira maxima* obtenida en fotobiorreactores, bajo condiciones ambientales controladas. A tal efecto, esta cianobacteria fue cultivada de forma discontinua en fotobiorreactores helicoidales y cilíndricos, durante 30 d en medio Zarrouk. El crecimiento poblacional analizado, a través de la determinación de la biomasa seca, fue mayor en el fotobiorreactor helicoidal (1,37 mg ml<sup>-1</sup>). El mayor contenido de exopolisacáridos se encontró en el fotobiorreactor helicoidal a los 12 d de cultivo. En ambos sistemas de cultivo se detectaron saponinas, esteroides insaturados y alcaloides. El contenido promedio de lípidos totales obtenido en los fotobiorreactores helicoidales (6,05 ± 0,012%) no mostró diferencias significativas (P>0,05) con los determinados en los fotobiorreactores cilíndricos (5,76 ± 0,038%). El ácido palmítico fue el ácido graso que se encontró en mayor proporción (fotobiorreactor helicoidal = 43,84 ± 0,922% y fotobiorreactor cilíndrico = 44,87 ± 3,094%). Los ácidos grasos poliinsaturados 18:2n-6 y 18:3n-6 mostraron concentraciones similares en ambos tipos de fotobiorreactores (16 a 18%). Al culminar esta investigación se deja en evidencia que los dos sistemas de cultivo evaluados permiten obtener biomasa de *Arthrospira maxima* con altos contenidos de lípidos totales y ácidos grasos, además de minerales y compuestos químicos de interés para la medicina, las industrias farmacéuticas y alimenticias.

**Palabras Clave:** *Arthrospira maxima*; cianobacteria; fotobiorreactor.

### SUMMARY

*Arthrospira maxima* (UTEX) was cultivated in batch mode under controlled environmental conditions in helical and cylindrical photobioreactors for 30 days in Zarrouk medium. Population growth, analyzed through the determination of dry biomass was higher in the helical photobioreactor (1.37 mg ml<sup>-1</sup>). The highest content of exopolysaccharides was found in the helical photobioreactor at 12 days of culture. In both culture systems we detected saponins, unsaturated sterols and alkaloids. The average content of total lipids obtained in the helical photobioreactor (6.05 ± 0.012%) showed no significant differences (P > 0.05) with those determined in the cylindrical photobioreactor (5.76 ± 0.038%). Palmitic acid was the fatty acid found in greater proportion (helical bioreactor = 43.84 ± 0.922%; cylindrical photobioreactor = 44.87 ± 3.094%). Polyunsaturated fatty acids found in greatest proportion were 18:2n-6 and 18:3n-6, which showed concentrations of 16-18%, with similar concentrations in both culture systems. This investigation demonstrated that the cultivation of *A. maxima* in both photobioreactors allows the production of biomass with high content of total lipids and fatty acids, plus minerals and important chemical compound for medical, pharmaceutical and food industries.

**Key Words:** *Arthrospira maxima*; cyanobacterium; photobioreactor.

## INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias comprenden un grupo grande y heterogéneo de procariontes fotoautotróficos oxigénicos, ampliamente aprovechadas para diferentes fines, destacándose su utilidad para la biorremediación de ambientes contaminados (Chaumont, 1993), como fertilizantes (Venkataraman, 1981), productoras de metabolitos secundarios (Naranjo *et al.*, 2010), especialmente en la producción de alimentos para el consumo humano y animal (Vonshak, 1997; Abdulqader *et al.*, 2000; Chamorro *et al.*, 2002).

Una de las cianobacterias más cultivada es *Arthrospira* (Silva *et al.*, 2012) como alimento para humanos y animales sometidos a cultivo, entre ellos crustáceos, moluscos y peces. Su gran aplicabilidad se fundamenta en su alto contenido nutricional: proteínas (55 a 60%), carbohidratos (12 a 20%), fibra (8 a 10%), vitaminas (A, complejo B, E, biotina, ácido fólico, inositol y ácido pantoténico), minerales (calcio, fósforo, hierro, sodio, potasio, zinc, cobre, manganeso, germanio), lípidos (6 a 8%), ácidos grasos: linoleico (20 a 30%), palmítico (55 a 70%) y oleico (3 a 50%) y pigmentos: betacaroteno (52 a 69%), zeaxantina (24 a 19%), ficocianina (10 a 15%), clorofila a (1 a 2%), según Belay, 2002.

Otros tipos de productos químicos obtenidos a partir de *Arthrospira* son los metabolitos secundarios (saponinas, fenoles) y los exopolisacáridos, los cuales son utilizados en la industria farmacéutica como anticoagulantes, antivirales y antioxidantes (Chamorro *et al.*, 2002); además los exopolisacáridos se emplean en la biorremediación de suelos contaminados por xenobióticos, ya que funcionan como quelantes de metales pesados y como removedores de material suspendido en reservorios de agua (Bender and Phillips, 2004; Trabelsi *et al.*, 2009).

En la última década se ensayaron diferentes métodos para la producción masiva de cianobacterias, destacándose entre éstos el uso de los fotobiorreactores, representando una serie de ventajas (control de las condiciones de cultivo, limitación de contaminantes y facilidad de la cosecha de biomasa); sin embargo, se deben tomar algunas precauciones al momento de diseñar el fotobiorreactor, como lo son: adecuada trayectoria de la luz, agitación constante, evitar la acumulación de O<sub>2</sub> y sustancias inhibitorias y un sistema que permita mantener valores óptimos de temperatura y pH (Contreras *et al.*, 2003).

Los fotobiorreactores permiten optimizar la producción de *Arthrospira*. Al respecto, Tredici y Zittelli (1997)

obtuvieron rendimientos de 25 a 28 g m<sup>-2</sup> día<sup>-1</sup> de *Arthrospira* en pequeños biorreactores cerrados. Por su parte, Matsudo *et al.* (2009) lograron cultivar *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* en fotobiorreactores utilizando como fuente de nitrógeno la urea, obteniendo un máximo valores de 2 101 ± 113 mg l<sup>-1</sup> de biomasa. Cogne *et al.* (2005) también cultivaron *Arthrospira platensis* en biorreactores y reportan que la luz es uno de los factores limitantes del crecimiento celular.

La máxima producción de biomasa de *Arthrospira*, con una calidad nutricional óptima, puede lograrse a través de las variaciones de las condiciones de cultivo, las cuales incluye temperatura de 25 a 40 °C, pH entre 10 a 11; irradiancia de 60 a 1 000 μmol fotones m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, salinidades de 1,5 a 5,0 UPS, nutrientes y abundante agitación (Zarrouk, 1966; Pedraza, 1989; Rojas *et al.*, 2012).

En Venezuela, las investigaciones sobre la producción de biomasa de *Arthrospira* son escasas (Fuenmayor *et al.*, 2002; Loreto *et al.*, 2007; Licet, 2008) y no se ha logrado desarrollar una tecnología para aprovechar los beneficios que brinda esta microalga. Esta investigación planteó la evaluación de la composición bioquímica de la biomasa de *Arthrospira maxima* obtenida en fotobiorreactores, bajo condiciones ambientales controladas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Microorganismo:** en esta investigación se utilizó una cepa de *A. maxima* procedente de la colección de Texas EE. UU. (UTEX), donada por el Laboratorio de Microalgas del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR, México) y mantenida en el cepario del Laboratorio de Acuicultura, Extensión Plancton del Departamento de Biología Pesquera del Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente.

**Condiciones de cultivo y diseño de los fotobiorreactores:** la microalga *A. maxima* fue cultivada de forma discontinua, por triplicado, en medio Zarrouk (Zarrouk, 1966) durante 30 d, bajo condiciones de ambiente controlado (25 ± 1 °C) en dos tipos de fotobiorreactores:

**1. Fotobiorreactor helicoidal:** con una inclinación de 2° con respecto a la horizontal, consiste en una manguera plástica transparente flexible (20 m de largo y 2,5 cm de diámetro) enrollada alrededor de una estructura rígida de malla metálica con forma cilíndrica (2 m de alto y 0,6 m de diámetro), que sirvió como soporte (Figura 1a).

El inicio y final de la manguera estuvieron conectados a un desgasificador (5 l de capacidad), el volumen de cultivo en este fotobiorreactor fue de 25 l, el suministro de aireación constante (200 ml/min) por la parte inferior de la manguera garantizó el flujo continuo del medio de cultivo, evitando de esa manera la sedimentación de las células y permitiendo un mayor intercambio gaseoso y exposición a la fuente de luz ( $98 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) proporcionada por tres lámparas fluorescentes de 40W.

**2. Fotobiorreactor cilíndrico:** botellones de vidrio (15 l de capacidad y 30 cm de diámetro), conteniendo 12 l de medio de cultivo con aireación constante de  $200 \text{ ml min}^{-1}$  y ubicados a 10 cm de distancia de una fuente de luz (tres lámparas fluorescentes de 40 w) que suministraron una irradiancia de  $98 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 1b).

**Parámetros de crecimiento poblacional y pH:** desde el inicio del ensayo, cada 24 h se tomaron 10 ml por triplicado de los cultivos de *A. maxima* y se centrifugaron a 4 000 rpm durante 15 min, posteriormente, la pastilla celular fue lavada con formiato de amonio a 1% para eliminar restos de sales, centrifugada nuevamente y colocada en una estufa a  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  hasta obtener una masa constante. El pH se midió diariamente utilizando un pH metro marca Denver.

### Composición química

**Exopolisacáridos:** se determinaron durante las fases de crecimiento exponencial (12 d) y estacionaria (24 d) de los cultivos, según el método de precipitación en acetona (Vicente *et al.*, 2004). Este método consistió

en centrifugar (3 500 rpm, 40 min) 20 ml de los cultivos en fase de crecimiento exponencial (12 d) y en fase estacionaria (24 d), posteriormente, se separó el sobrenadante, al cual se le adicionó 40 ml de acetona. La mezcla se dejó reposar (48 h,  $0 \text{ }^\circ\text{C}$ ), se centrifugó hasta obtener la pastilla de exopolisacárido y se colocó en una estufa a  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ , para luego pesarla. El contenido de exopolisacáridos se expresó en  $\text{mg ml}^{-1}$  y corresponde al promedio de todas las réplicas.

**Metabolitos secundarios:** la detección de las familias de compuestos se realizó al final del ensayo (30 d) de acuerdo con las técnicas descritas por Domínguez (1973) y Marcano y Hasegawa (2002).

**Lípidos totales:** la determinación de los lípidos totales se realizó al final del ensayo (30 d). La extracción del contenido lipídico, a partir de la biomasa de *A. máxima*, se llevó a cabo a través de la metodología descrita por Bligh and Dyer (1959); mientras que la cuantificación se hizo mediante un ensayo cuantitativo basado en la carbonización de la materia orgánica (Marsh and Weinstein, 1966).

**Perfil de ácidos grasos:** al final del ensayo (30 d) los extractos lipídicos de la biomasa de *A. máxima*, obtenidos a través del método de Bligh y Dyer (1959), se esterificaron de acuerdo con la metodología de Sato y Murata (1988). Los ésteres metílicos de ácidos grasos fueron analizados a través de un cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas (HP 1800B), utilizando una columna omegawax TM 250 fused sílica (Supelco) de  $0,25 \text{ mm} \times 0,25 \mu\text{m} \times 25 \text{ m}$  de largo.

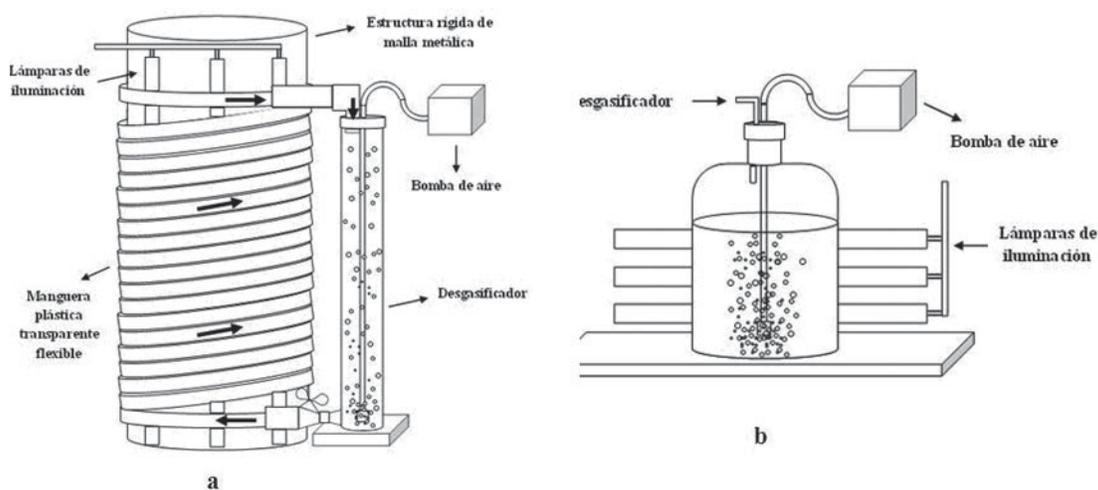


FIGURA 1. Diseño de los fotobiorreactores. a) Helicoidal y b) Cilíndrico.

Los ácidos grasos fueron identificados mediante la comparación de los tiempos de retención de un patrón comercial de ésteres metílicos de ácidos grasos PUFA-3 (Sigma) y por comparación de los espectros de masa que generaron las muestras, con relación al espectro de masas contenido en las bibliotecas NIST2000 y CIBNOR. Los resultados se expresaron en porcentaje con base a los ácidos grasos encontrados.

**Microelementos:** la biomasa de *A. maxima* cosechada al final del ensayo (30 d) se sometió a un proceso de digestión en caliente (100 °C), en un horno microondas, CEM Mars5X 12044, durante 2,5 h, con una mezcla de ácido nítrico: ácido clorhídrico, en proporción de 3:1 (APHA *et al.*, 1980). Luego, las muestras digeridas fueron analizadas en un espectrómetro de absorción atómica, GBC Avanta 12209. Las concentraciones de metales se expresaron en mg l<sup>-1</sup> de cultivo.

**Análisis estadísticos:** los resultados de lípidos totales, ácidos grasos, microelementos y metabolitos secundarios fueron contrastados mediante un análisis de varianza de una vía (factor: sistema de cultivo). Los resultados del contenido de exopolisacáridos se analizaron a través de una ANOVA de dos vías (factor 1: fases de cultivo, factor 2: sistema de cultivo) (Sokal y Rohlf, 1995).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Crecimiento poblacional y pH

El crecimiento de *A. maxima* cultivada bajo condiciones controladas de laboratorio, en los dos tipos de fotobiorreactores, se muestra en la Figura 2. Además, se observa que el mayor contenido de biomasa en el fotobiorreactor helicoidal se obtuvo en el día 20 ( $1,4 \pm 0,015$  mg ml<sup>-1</sup>), mientras que en el cilíndrico ocurrió durante el día 22 ( $0,94$  mg ml<sup>-1</sup>). Al comparar estos valores con los referidos en la literatura, se evidencia que son superiores a los reportados por Reichert *et al.* (2006), alcanzando concentraciones de biomasa de  $0,50$  mg ml<sup>-1</sup> inferiores a los demostrados por Andrade y Costa (2007), quienes encontraron concentraciones de biomasa de  $2,8$  mg ml<sup>-1</sup>. Las diferencias observadas en el crecimiento poblacional de *A. maxima* cultivada en los fotobiorreactores se debió a la agitación del medio de cultivo.

El fotobiorreactor helicoidal, al ofrecer mayor movimiento del cultivo propició un crecimiento poblacional más elevado, debido principalmente, a que esta agitación mantuvo en suspensión las sales nutritivas, permiti

un mayor intercambio gaseoso y penetración de la luz. La menor agitación presente en los fotobiorreactores cilíndricos propició la formación de una capa densa de *A. maxima* en la superficie de los cultivos, la cual, al limitar el paso de la luz al fondo del recipiente, produjo una disminución del crecimiento del alga. Esta formación de biocapas sobre la superficie del cultivo, está íntimamente asociada con aquellas microalgas que producen polisacáridos exocelulares (De Philippis y Vincenzini, 1998), como es el caso de *A. maxima* (observación personal) y *A. platensis* (Eliach *et al.*, 2004).

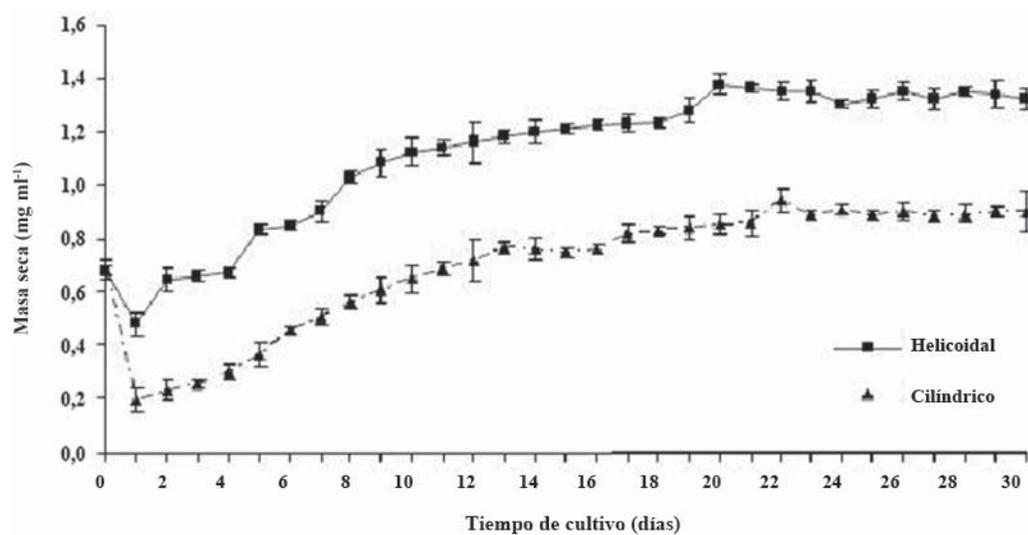
Los valores de pH registrados durante el desarrollo de los cultivos, se mantuvieron entre 10 a 11 (promedio:  $10,5 \pm 0,70$ ), los cuales están en concordancia con lo reportado por la mayoría de los autores, quienes indican que el metabolismo de *A. maxima*, así como el de otras especies del género *Arthrospira* es óptimo a pH 9 a 11 (Melack y Kilham, 1974; Rafiqul *et al.*, 2005), lo que garantiza que los cultivos sean menos contaminados por otros organismos competidores y depredadores, tipo microalgas o protozoarios (Ciferri, 1983), situación que se corroboró en este trabajo, pues, no se evidenció en los cultivos la presencia de este tipo de organismos.

### Composición química de la biomasa de *A. maxima*

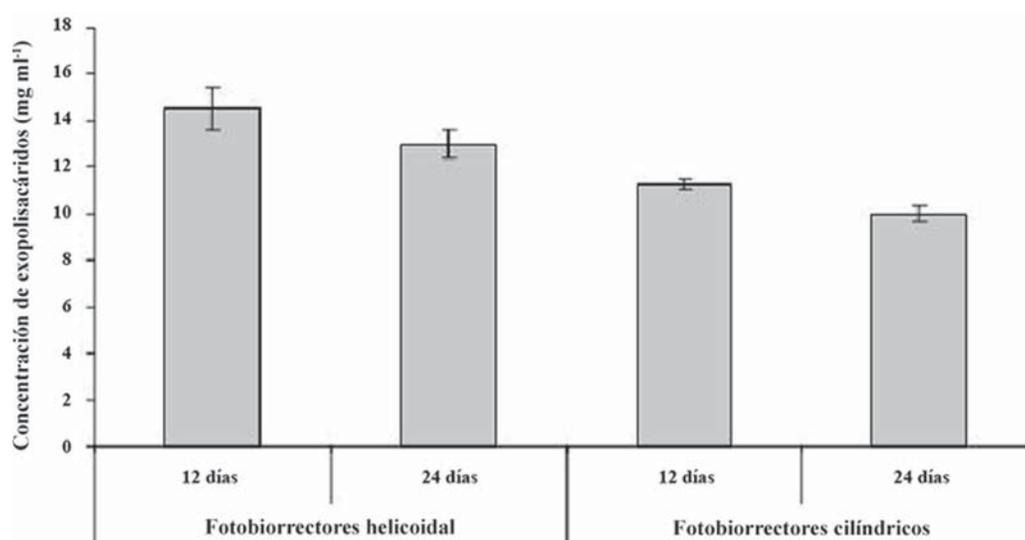
**Exopolisacáridos:** la concentración de exopolisacáridos obtenida en los cultivos de *A. maxima* en fotobiorreactores helicoidales y cilíndricos se presenta en la Figura 3. El análisis de varianza mostró diferencias significativas en el contenido de estos exocompuestos, tanto en el tipo de fotobiorreactor utilizado ( $P < 0,05$ ;  $F_s = 58,48$ ) como en el periodo de cosecha ( $P < 0,05$ ;  $F_s = 9,79$ ), obteniéndose los mayores valores ( $14,50 \pm 0,901$  mg ml<sup>-1</sup>) en el fotobiorreactor helicoidal, durante la fase exponencial (12 d de cultivo).

Lo anterior puede ser atribuido a que en estos cultivos *A. maxima* estuvo expuesta a una mayor irradiancia, lo que propicia la síntesis de polisacáridos exocelulares, como protección de las células ante los factores estresantes (De Philippis y Vincenzini, 1998). El estudio de los exopolisacáridos de *Arthrospira* ha tomado auge durante los últimos años, dado que estos compuestos poseen una marcada actividad biológica.

Al respecto, Seyoum *et al.* (1998) observaron que extractos acuosos de *A. platensis* inhibieron la replicación del VIH-1 en líneas de células T humanas. La caracterización química de estos extractos reveló la presencia de polisacáridos y taninos con interés clínico, debido a la significativa actividad antirretroviral que poseen.



**FIGURA 2.** Crecimiento poblacional de *A. maxima*, cultivada bajo condiciones de ambiente controlado en fotobiorreactores.



**FIGURA 3.** Contenido de exopolisacáridos ( $\text{mg ml}^{-1} \pm \text{DS}$ ) en *A. maxima*, cultivada bajo condiciones controladas de laboratorio en fotobiorreactores.

**Metabolitos secundarios:** las únicas familias químicas detectadas en los extractos de *A. maxima*, cultivada en fotobiorreactores helicoidales y cilíndricos, fueron saponinas, esteroides insaturados y alcaloides. Estos resultados difieren de los presentados por Li-Chen *et al.* (2005) y Colla *et al.* (2007) quienes reportan que *A. platensis* logra producir compuestos fenólicos, posibles responsables de la actividad antioxidante de dicha cepa.

Esta discrepancia de resultados se debe a que los mencionados autores analizaron otra especie de *Arthrospira* y además utilizaron condiciones de cultivo distintas, lo que puede llevar a la cianobacteria hacia la producción de un compuesto u otro. La influencia que ejerce el medio y las condiciones de cultivo sobre la producción de un determinado compuesto por parte de *Arthrospira* se demuestra en numerosas investigaciones (Mussagy *et al.*, 2006; Ballot *et al.*, 2005; Codd *et al.*, 2005).

**Lípidos totales:** el contenido promedio de lípidos totales, obtenido en *A. maxima* (Cuadro 1) en los fotobiorreactores helicoidales ( $6,05 \pm 0,0125\%$ ), demostró diferencias no significativas ( $P > 0,05$ ;  $F_s = 0,72$ ) con los determinados en los fotobiorreactores cilíndricos ( $5,76 \pm 0,038\%$ ). Estas concentraciones de lípidos son similares a los valores reportados por Cohen (1997); Oliveira *et al.* (1999); Ramírez y Olvera (2006), quienes indicaron que la mayoría de las especies de *Arthrospira* posee entre 6 a 13% de lípidos totales. Sin embargo, el contenido de esta macromolécula puede incrementarse al variar las condiciones y sistemas de cultivo (Ciferri, 1983). Al respecto, Paoletti *et al.* (1980) lograron incrementar hasta 15% los lípidos totales en *A. maxima* cuando los cultivos se realizaron en lagunas abiertas que estuvieron expuestas a elevada temperatura ( $40\text{ }^\circ\text{C}$ ) e irradiancia.

**Ácidos grasos:** en el Cuadro 1 se presenta el perfil de ácidos grasos de *A. maxima*, los ácidos grasos mayoritarios fueron: palmítico (16:0), linoleico (18:2n-6) y gammalinolénico (18:3n-6), conformando entre el 77 a 78% del total de los ácidos grasos analizados. Estos resultados coinciden con los publicados por Oliveira *et al.* (1999); Mühlhling *et al.* (2005), quienes indicaron que los ácidos grasos palmítico, linoleico y gammalinoleico de diferentes cepas de *A. maxima* y *A. platensis* constituyen entre 70 a 80% del total de los ácidos grasos totales.

El ácido graso saturado encontrado en mayor proporción fue el ácido hexadecanoico (palmítico, 16:0) con valores de  $43,84 \pm 0,921\%$  y  $44,87 \pm 3,090\%$ , obtenidos en los fotobiorreactores helicoidal y cilíndrico, respectivamente.

**CUADRO 1.** Perfil de ácidos grasos y lípidos totales (%) de *A. maxima* cultivada bajo condiciones controladas de laboratorio en fotobiorreactores.

Ácidos grasos	Promedio $\pm$ DS fotobiorreactor helicoidal	Promedio $\pm$ DS fotobiorreactor cilíndrico
14:00	1,473 $\pm$ 0,0426	0,655 $\pm$ 0,1227
14:0 iso	0,068 $\pm$ 0,0078	0,009 $\pm$ 0,0007
14:0 antiiso	0,106 $\pm$ 0,0057	0,060 $\pm$ 0,0488
15:00	0,277 $\pm$ 0,0049	0,177 $\pm$ 0,0625
15:0 iso	0,125 $\pm$ 0,0032	0,277 $\pm$ 0,1907
16:00	43,843 $\pm$ 0,9218	44,875 $\pm$ 3,0936
16:0 antiiso	0,378 $\pm$ 0,0591	1,909 $\pm$ 0,8982
17:00	0,678 $\pm$ 0,2746	0,487 $\pm$ 0,0380
18:00	1,675 $\pm$ 1,6237	1,154 $\pm$ 0,5377
19:00	0,101 $\pm$ 0,0069	0,036 $\pm$ 0,0131
19:0 iso	0,745 $\pm$ 0,0111	0,437 $\pm$ 0,1018
20:00	0,466 $\pm$ 0,0424	1,309 $\pm$ 0,9592
22:00	0,368 $\pm$ 0,0484	1,340 $\pm$ 0,7774
<b>Saturados</b>	<b>50,3027</b>	<b>52,725</b>
16:1n-9	1,845 $\pm$ 0,5133	1,630 $\pm$ 0,5769
16:1n-7	4,052 $\pm$ 1,1147	3,497 $\pm$ 0,7307
17:1n-7	0,154 $\pm$ 0,0080	0,115 $\pm$ 0,0330
18:1n-9 (Z)	5,078 $\pm$ 1,5818	7,210 $\pm$ 2,6847
18:1n-9 (E)	0,326 $\pm$ 0,0791	0,210 $\pm$ 0,0850
<b>Monoinsaturados</b>	<b>11,455</b>	<b>12,662</b>
18:2n-6 (Z)	18,100 $\pm$ 3,8823	16,007 $\pm$ 0,0445
18:3n-6	17,775 $\pm$ 1,3239	17,028 $\pm$ 0,1494
20:2n-6	0,618 $\pm$ 0,0973	0,077 $\pm$ 0,0355
20:4n-6	1,749 $\pm$ 0,3399	1,501 $\pm$ 0,2270
<b>Poliinsaturados</b>	<b>38,242</b>	<b>34,613</b>
<b>Lípidos totales</b>	<b>6,05 <math>\pm</math> 0,0125</b>	<b>5,76 <math>\pm</math> 0,038</b>

Entre los ácidos grasos monoinsaturados, el 18:1n-9(Z) (oleico) demostró las mayores concentraciones, alcanzando 5% en el fotobiorreactor helicoidal y 7% en el cilíndrico. Los ácidos grasos poliinsaturados encontrados en mayor proporción fueron los ácidos 18:2n-6 y 18:3n-6, los cuales revelaron concentraciones entre 16 a 18%, siendo sus concentraciones similares en ambos sistemas de cultivo.

Los ácidos grasos poliinsaturados C-18, determinados en esta investigación en los fotobiorreactores helicoidales y cilíndricos, representan 36 y 33%, respectivamente, con relación al total de los ácidos grasos. Estas concentraciones obtenidas, son superiores a las referidas por Oliveira *et al.* (1999), pero menores que las citadas por Mühling *et al.* (2005), estas diferencias se deben a las temperaturas e irradiancias usadas por estos autores.

Un resultado importante obtenido en esta investigación fue que las condiciones de cultivo utilizadas promovieron una acumulación significativa del contenido del ácido gammalinolénico (17% con relación al total de los ácidos grasos), ya que este compuesto tiene mucha aplicación en la industria farmacéutica, al reducir los niveles de triacilglicérols en la sangre (Leaf and Weber, 1988) y estimular el sistema inmune (Wu and Meydani, 1996).

**Microelementos:** el contenido de microelementos analizados en la biomasa de *A. maxima* producida bajo condiciones controladas de laboratorio, en los dos tipos de fotobiorreactores ensayados, se presenta en el Cuadro 2, el único elemento que indicó diferencias en su concentración fue el sodio, siendo el más elevado en la biomasa procedente del fotobiorreactor helicoidal (89 mg l<sup>-1</sup> en el fotobiorreactor helicoidal y 61 mg l<sup>-1</sup> en fotobiorreactor cilíndrico). El resto de los elementos mostraron concentraciones similares en ambos tipos de fotobiorreactores.

En la biomasa de *A. maxima*, cultivada en el fotobiorreactor helicoidal, se cuantificaron mayores concentraciones de metales (sodio, zinc, magnesio y hierro) que en aquellos cultivos realizados en el fotobiorreactor cilíndrico. Estas diferencias podrían estar justificadas en el hecho de que el fotobiorreactor helicoidal mantiene una mejor agitación, lo que conlleva a una mejor biodisposición de los nutrientes y, por ende, un mejor desarrollo y crecimiento de las células.

Es conocido que *Arthrospira* es una microalga muy utilizada como complemento nutricional en niños y adultos, por su alto contenido de hierro, magnesio y metales trazas; además de que estos minerales son más fáciles de absorber

(60% mejor absorbidos) de fuentes como *Arthrospira*, que del sulfato ferroso y otros suplementos de hierro, entre otros (Puyfoulhoux *et al.*, 2001).

**CUADRO 2.** Concentración de microelementos (mg l<sup>-1</sup>) en *A. maxima*, cultivada bajo condiciones controladas de laboratorio en fotobiorreactores.

Fotobiorreactor	Metal	Concentración Promedio ± DS
Helicoidal	Na	89,19 ± 0,399
	Mg	4,11 ± 0,057
	Fe	0,30 ± 0,014
	Zn	5,67 ± 0,019
Cilíndrico	Na	60,93 ± 0,319
	Mg	3,58 ± 0,018
	Fe	0,28 ± 0,008
	Zn	5,44 ± 0,071

Los resultados de esta investigación evidencian que *A. maxima* es una cianobacteria con potencial biotecnológico, debido principalmente a la obtención de biomasa con alto contenido de ácidos grasos, minerales, entre otros productos bases en la industria de la alimentación humana y animal (utilizados como colorantes, antioxidantes, aditivos), farmacéutica (utilizados como vitaminas, provitaminas e inmunotrazadores) y de la medicina (industria que considera a *Arthrospira* como uno de los productos más importantes para combatir un sin número de enfermedades y afecciones, como el cáncer, SIDA, virus, obesidad, síndrome premenstrual, entre otras).

El trabajo aquí descrito pretende ser uno de los pioneros en el cultivo de *Arthrospira* en nuestro país, utilizando sistemas de fotobiorreactores en ambientes controlados.

Sin embargo, se recomienda realizar estudios adicionales, con el fin de evaluar la influencia de otros factores ambientales (irradiancia, temperatura y concentración de CO<sub>2</sub>, entre otros) sobre la fisiología de este microorganismo y en la producción de compuestos de interés industrial; además de evaluar cepas autóctonas, que puedan ser utilizadas en futuros proyectos de obtención de biomasa con alta calidad nutricional y menor riesgo de intromisión de especies exóticas en nuestras regiones, los cuales pueden causar problemas de impacto ambiental.

### CONCLUSIONES

- El crecimiento de *A. maxima* fue mayor en los cultivos realizados en el fotobiorreactor helicoidal.
- Los metabolitos secundarios detectados en la biomasa de *A. maxima*, en los dos tipos de fotobiorreactores, fueron saponinas, esteroides insaturados y alcaloides.
- La acumulación de lípidos totales fue similar en los fotobiorreactores helicoidales y cilíndricos.
- El ácido graso con mayor concentración en ambos fotobiorreactores fue el ácido palmítico (16:0) y los poliinsaturados mayormente acumulados fueron los ácidos linoleico (18:2 n-6) y el linolénico (18:3 n-6).

### AGRADECIMIENTO

A las profesionales Elena Palacios, Olivia Arjona y Laura Carreon del CIBNOR-México, por el apoyo brindado para los análisis de los ácidos grasos.

### BIBLIOGRAFÍA

- Abdulqader, G., L. Barsanti and M. Tredici. 2000. Harvest of *Arthrospira platensis* from Lake Kossorum (Chad) and its household usage among the Kanembu. *J. Appl. Phycol.* 12:493-498.
- American Public Health Association (APHA). American Water Works Association & Water Pollution Control Federation. 1980. Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, Washington, D.C. USA.
- Andrade, M. and J. Costa. 2007. Mixotrophic cultivation of microalga *Spirulina platensis* using molasses as organic substrate. *Aquaculture*, 264:130-134.
- Ballot, A., L. Krienitz, K. Kotut, C. Wiegand and S. Pflugmacher. 2005. Cyanobacteria and cyanobacterial toxins in the alkaline crater lakes Sonachi and Simbi, Kenya. *Harmful Algae*, 4:139-150.
- Belay, A. 2002. The potential application of *Spirulina (Arthrospira)* as a nutritional and therapeutic supplement in health management. *J. Am. Nutr. Asso.* 5(2):27-49.
- Bender, J. and P. Phillips. 2004. Microbial mats for multiple applications in aquaculture and bioremediation. *Bioresour. Technol.* 94: 229-238.
- Bligh, E. and W. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37:911-917.
- Chaumont, D. 1993. Biotechnology of algal biomass production: a review of systems outdoor may culture. *J, Appl. Phycol.* 5:593-604.
- Chamorro, G., M. Salazar, K. Gomes, C. Pereira, G. Ceballos y L. Fabila. 2002. Actualización en la farmacología de *Spirulina (Arthrospira)*, un alimento no convencional. *ALAN*, 52: 232-240.
- Ciferri, O. 1983. *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiol. Rev.* 47(4):551-578.
- Codd, G., L. Morrison and J. Metcalf. 2005. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 203(3):264-272.
- Cogne, G., J. Cornet and J. Gros. 2005. Design, Operation, and Modeling of a Membrane Photobioreactor to Study the Growth of the Cyanobacterium *Arthrospira platensis* in Space Conditions. *Biotechnol. Progr.* 21(3):741-750.
- Cohen, Z. 1997. The chemicals of *Spirulina*. **In:** *Spirulina platensis: Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. A. Vonshak (ed). Taylor & Francis, London, 175-204 pp.
- Colla, L., E. Furlong y J. Vieira. 2007. Antioxidant properties of *Spirulina (Arthrospira) platensis* cultivated under different temperatures and nitrogen regimes. *Braz. Arch. Of Biol. and Technol.* 50(1):161-167.
- Contreras, C., J. Peña, L. Flores y R. Cañizares. 2003. Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. *Interciencia*, 28(8):450-456.
- De Philippis, R. and M. Vincenzini. 1998. Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications. *Microbiol. Reviews*, 22:151-175.
- Domínguez, X. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica. Editorial Limusa. México, D.F. 2 81 pp.
- Eliach, J., G. Bourges, L. Duré, M. Medina y M. Lara. 2004. Incidencia de la agitación en el crecimiento

- microalgal en biorreactores. Pub. Secretaría de Ciencia y Técnica. Facultad de Ciencias Exactas, Ingeniería y Agrimensura. Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina. 15 p.
- Fuenmayor, G., N. Rosales, R. Mora y E. Morales. 2002. Crecimiento de la cianobacteria *Spirulina subsalsa*, a diferentes salinidades y concentraciones de bicarbonato. XXVIII Jornadas Nacionales de Microbiología, Barquisimeto, Venezuela.
- Leaf, A. and P. Weber. 1988. Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. *New England J. of Medicine*. 318(9):549-557.
- Licet, B. 2008. Cultivo de *Arthrospira platensis* (División: Cyanophyta) a diferentes salinidades y fuentes de nitrógeno como estrategia para modificar su composición bioquímica. Trabajo de Grado de Maestría. Postgrado en Ciencias Marinas, Universidad de Oriente.
- Li-Chen, W., A. Ja-an, S. Ming-Chen y L. In-Wei. 2005. Antioxidant and antiproliferative activities of *Spirulina* and *Chlorella* water extracts. *J. Agric. Food Chem.* 53:4207-4212.
- Loreto, C., G. Fuenmayor, B. Briceño, N. Rosales y E. Morales. 2007. Calidad microbiológica y bioquímica de derivados comerciales de la cianobacteria *Spirulina*. *Bo. Centr. Investig. Biol.* 41:107-113.
- Marcano, D. y M. Hasegawa. 2002. Fitoquímica Orgánica. Consejo Científico, Univ. Central Venezuela, Caracas. 451 p.
- Marsh, J. and D. Weinstein. 1966. Simple charring method for determination of lipids. *J. Lipids. Res.* 7:574-592.
- Matsudo, M., Bezerra, R., Sato, S. Perego, P. Converti, A. and J. Carvalho. 2009. Repeated fed-batch cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* using urea as nitrogen source. *Bioch. Engin. J.* 43:52-57.
- Melack, J. and P. Kilham. 1974. Photosynthetic rates of photoplankton in East Africa alkaline, saline lakes. *Limnol. Oceanogr.* 19:743-755.
- Mühling, M., A. Belay and B. Whitton. 2005. Variation in fatty acid composition of *Arthrospira (Spirulina)* strains. *J. Appl. Phycol.* 17:137-146.
- Mussagy, A., H. Annadotter and G. Cronberg. 2006. An experimental study of toxin production in *Arthrospira fusiformis* (Cyanophyceae) isolated from African waters. *Toxicon*, 48:1 027-1 034.
- Naranjo, L., Rojas, D., González, H., Torres, R., Zegarra, J., Sena, L. y D. Sosa. 2010. *Arthrospira platensis* como biofactoría de metabolitos secundarios de interés farmacológico: el ácido pipercolico. *Rev. Latinoam. Biotecnol. Amb. Algal*, 1(1):64-90.
- Oliveira, M., M. Monteiro, P. Robbs and S. Leite. 1999. Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. *Aquacult. Internat.* 7:261-275.
- Paoletti, C., M. Vincenzini, F. Bocci y R. Materassi. 1980. Composizione bioquímica generale delle biomasse di *Spirulina platensis* e *S. maxima*. **In:** Prospettive Della coltura di **Spirulina** in Italia. Materassi, R (Ed.). Italia.
- Pedraza, G. 1989. Cultivo de *Spirulina maxima* para suplementación proteica. *Liv. Res. for Rural Dev.* 1(1):1-6.
- Puyfoulhoux, G., J. Rouanet, P. Besancon, B. Baroux, J. Baccou and B. Caporiccio. 2001. Iron availability from iron-fortified *Spirulina* by an *in vitro* digestion/ CaCO<sub>2</sub> cell culture model. *J. Agric. Food Chem.* 49:1 625-1 629.
- Rafiqul, I., K. Jalal and M. Alam. 2005. Environmental factors for optimization of *Spirulina* biomass in laboratory culture. *Biotechnology*, 4(1):19-22.
- Ramírez, L. y R. Olvera. 2006. Uso tradicional y actual de *Spirulina* sp. (*Arthrospira* sp.). *Interciencia*, 31(9):657-663.
- Reichert, C., C. Reinehr and J. Costa. 2006. Semicontinuous cultivation of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in a closed photobioreactor. *Brazilian J. of Chem. Engin.* 23(1):23-28.
- Rojas, E., M. Ávila and G. Parada. 2012. Aplicación de estrategias nutricionales y su efecto en el crecimiento en el cultivo continuo de *Spirulina (Arthrospira platensis)*. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 40(3): 763-771.
- Sato, N. and N. Murata. 1988. Membrane Lipids. *Method Enzimol.* 167:251-259.

- Seyoum, A., A. Belay, T. Baba and R. Ruprecht. 1998. Inhibition of HIV-1 Replication by an Aqueous Extract of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*). J. Acquir. Immune Deficienc. Syndromes & Human Retrovir. 18 (1): 7-12.
- Silva, J., A. Pinto, H. Sabry and M. Carmo. 2012. *Spirulina* meal has acted as a strong feeding attractant for *Litopenaeus vannamei* at a very low dietary inclusion level. Aquacult. Research. 43:430-437.
- Sokal, R.R., and F.J. Rohlf. 1995. Biometry: The principles and practice of statistics in biological research. 3rd edition. W.H. Freeman, New York.
- Trabelsi, L., N. Houda, H. Ben Ouada, H. Bacha and S. Roudesli. 2009. Partial characterization of extracellular polysaccharides produced by cyanobacterium *Arthrospira platensis*. Biotech. and Bioproc. Engin. 14:27-31.
- Tredici, M. and G. Zittelli. 1997 Cultivation of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* in flat plate reactors. **In:** *Spirulina platensis: Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. A. Vonshak (ed). Taylor & Francis, London, 117-130 pp.
- Venkataraman, G. 1981. Blue-green algae for rice production. FAO Soil Bull., 16:33-42.
- Vicente, V., E. Ríos, G. Calderón, R. Cañizales and R. Olvera. 2004. Detection, isolation, and characterization of exopolysaccharide produced by a strain of *Phormidium* 94 a isolated from an arid zone of Mexico. Biotechnol. and Bioeng. 85:306-310.
- Vonshak, A. 1997. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): physiology, cell biology and biotechnology. J. Appl. Phycol. 9:295-596.
- Wu, D. and N. Meydani. 1996. Gamma-Linolenic acid and immune function. **In:** Gamma-Linolenic acid: Metabolism and its roles in nutrition and medicine. Huang, S. and Mills, D. (Eds). AOCS Press. U.S.A.
- Zarrouk, C. 1966. Contribution l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setch et Gardner) Geitler. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad de París. Italia. 41 pp.

## DURACIÓN DE LA FASE ADULTA Y EMERGENCIA DE MACHOS Y HEMBRAS DEL PERFORADOR DEL FRUTO DE CACAO EN CHORONÍ Y MARACAY, ESTADO ARAGUA

### ADULT PHASE DURATION MALES AND FEMALES EMERGENCY OF COCOA FRUIT BORER IN CHORONI AND MARACAY, ARAGUA STATE

María del C. Sánchez\*, Rafael Navarro\*\*, Carlos Marín\*\*\*, Rafael Casares\*\*\*\* y Vicente Fuentes\*\*\*\*\*

\*Investigador, \*\*Investigador jubilado e \*\*\*Ing. Agr. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas-Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP). Apdo. 4653. Maracay 2101-A, estado Aragua. Venezuela.

\*\*\*\*Profesor jubilado. Universidad Central de Venezuela (UCV). Maracay 2101-A, estado Aragua, Venezuela.

\*\*\*\*\*Ingeniero Agrónomo productor. Hacienda Torres, Choroni, estado Aragua, Venezuela.

Correo electrónico: mcsanchez@inia.gob.ve, rnavarro@inia.gob.ve, cmarin@inia.gob.ve, casaresrafael@hotmail.com, haciendatorres48@yahoo.com.ve

#### RESUMEN

La especie *Carmenta foraseminis* insecto plaga del cacao, *Theobroma cacao* L., difícilmente oviposita en condiciones de cautiverio. Así que para conocer algunos aspectos de su biología se desarrolló una investigación en dos localidades del estado Aragua, Venezuela: Maracay (My) y Choroni (Ch). En Ch fueron tomadas muestras en las pilas de las mazorcas de cacao dispuestas para el desgrane, de los frutos dañados se colectaron larvas y pupas que se utilizaron posteriormente en los ensayos. Además, se hicieron las pruebas para determinar si el color (negro o blanco) y el tipo de envase afectaban la emergencia y duración de la fase adulta, al respecto no se presentaron diferencias significativas. Igualmente, se realizaron pruebas sobre el ciclo de la fase adulta, porcentaje de emergencia según el sexo, horarios matutino y vespertino. Para el análisis de datos se usaron las pruebas binomial y de ji al cuadrado ( $\chi^2$ ) para dos proporciones, adicionalmente, se probaron diferentes recipientes y sustratos para la obtención de huevos. En My hubo diferencias significativas en las proporciones de machos y hembras emergidos. También se detectaron diferencias altamente significativas para el número de pupas que lograron alcanzar la fase adulta y el lugar de emergencia, siendo mayor la emergencia en Ch, donde no se observaron diferencias significativas con respecto a los horarios señalados, pero se consiguieron huevos en el contenedor que tenía secciones de cacao con las exuvias de las pupas de *C. foraseminis*.

**Palabras Clave:** *Carmenta foraseminis*; laboratorio; oviposición; Sesiidae; *Theobroma cacao* L.

#### SUMMARY

The species *Carmenta foraseminis* pest of cocoa, *Theobroma cacao* L., hardly oviposit in captivity. So to know some aspects of its biology research was undertaken in two locations of Aragua State, Venezuela: Maracay (My) and Choroni (Ch). In Ch samples were taken in the stacks of cocoa pods ready for shelling. From damaged fruits were collected larvae and pupae that were subsequently used in the trials. In addition, tests were made to determine if the color (black or white) and the type of container affect the emergence and duration of the adult stage, the matter did not show significant statistical differences. Similarly, tests were performed on the cycle of the adult stage, emergence percentage by sex, morning and evening hours. For data analysis were used binomial test and chi-square for two ratios, additionally, different containers were tested and substrates for obtaining eggs. In My significant differences in the proportions of males and females emerged. Also, highly significant differences were detected for the number of pupae that managed to reach the adult stage and location of emergency, emergency being greater Ch, where no significant differences were observed with respect to the times indicated, but it got eggs in the container that had sections of cocoa with pupal exuviae *C. foraseminis*.

**Key Words:** *Carmenta foraseminis*; laboratory; Sesiidae; oviposition; *Theobroma cacao* L.

## INTRODUCCIÓN

Los insectos perforadores del fruto de cacao, *Theobroma cacao* L. Sterculiaceae, pertenecen a diferentes familias del Orden Lepidoptera, siendo las larvas de los géneros *Carmenta*, *Stenoma* y *Ecdytolopha* las que perforan frutos desde pequeños hasta maduros. La especie *Carmenta foraseminis* Eichlin, perteneciente a la familia Sesiidae, ocasiona los mayores daños económicos.

La hembra de este insecto oviposita en los frutos, luego de la eclosión de los huevos, las larvas perforan la corteza para alimentarse de las semillas, atrofiando los granos. Seguidamente, se desplazan hacia la superficie del fruto hasta cumplir su fase como pupa, el fruto externamente presenta apariencia sana, pero se detecta una mancha oscura o peca que sella la abertura de la perforación. Los adultos rompen la película externa en el sitio donde se ubica la peca y dejan la exuvia o resto de pupa adherida al hueco de salida, permitiendo la entrada de otros insectos a la mazorca y la infección por hongos (Navarro *et al.*, 2001; Morillo *et al.*, 2001; Navarro, 2003; Navarro *et al.*, 2004; Mora, 2004; Delgado, 2004).

Los individuos *C. foraseminis*, al igual que otros sésidos, difícilmente ovipositan en condiciones de cautiverio. La mayoría de los trabajos publicados sobre otros perforadores de la misma familia, tales como el barrenador del grosellero [*Synanthedon tipuliformis* (Clerk)], el perforador del cornejo [*S. scitula* (Harris)], el perforador de la vid [*Melittia cucurbitae* (Harris)], el taladrador negro del manzano [*S. pyri* (Harris)], el taladrador de la raíz de la vid [*Vitacea polistiformes* (Harris)], el perforador de las lilas [*Podosesia syringae* (Harris)], el perforador del roble [*Paranthrene simulans* (Grote)], el perforador del rododendro [*S. rhododendri* (Beutenmüller)], el taladrador del fresno [*P. aureocincta* Purrington y Nielsen), el taladrador menor del duraznero [*S. pictipes* (Grote and Robinson)], el perforador del sicómoro [*S. resplendens* (Edwards)], la polilla avispa americana [*Sesia tibialis* (Harris)] y la polilla que ataca los pinos [*S. novaroensis* (Edwards)], no presentaron diferencias significativas ni para la emergencia ni para la duración de la fase adulta. Por su parte, Welty, 1991; Ellis y Horton, 1999; Universidad de California, 2004; Booth, 2005; Dogwood Borer, 2005; Solymar, 2005, realizaron sus observaciones en los campos. Asimismo, los adultos de *Chamaesphecia mysiniiformis* (Boisduval) produjeron menor número de huevos en insectario, posiblemente por la necesidad de volver a sincronizar su ciclo de vida (Under Control, 2002).

Del mismo modo, Delgado (2004) indujo la oviposición de *C. foraseminis* en laboratorio, empleando diferentes sustratos, pero solo observó huevos en las tiras de papel con concha de cacao sancochada y molida, que no emergieron. Mientras que Derksen *et al.* (2006) demostraron que la oviposición del perforador del árbol del duraznero [*S. exitiosa* (Say), Sesiidae] estuvo influenciada por semioquímicos en laboratorio, debido a que las hembras colocaron sus huevos en sustratos cebados con una mezcla de savia del árbol y excretas de larvas o en una combinación de 21 semioquímicos. De este modo, Derksen *et al.* (2007) identificaron los compuestos atractivos para la oviposición.

El cacao es un cultivo conservacionista, protector de los suelos, agua, flora y fauna, que con asociaciones de cultivos permanentes y de ciclo corto, permiten desarrollar haciendas diversificadas que aseguran en parte, la provisión de la familia campesina (Aponte, 1982). Por consiguiente, se debe hacer énfasis en el manejo integrado insectos-plagas, con el fin de preservar los insectos polinizadores responsables de la producción. Dentro de los métodos se encuentra el control biológico, el cual utiliza enemigos naturales (parasitoides y depredadores) para reducir el impacto de los insectos-plagas. De esta manera, se contribuye con la sustentabilidad del cultivo y por ende, con la salud ambiental y humana.

En el campo, el uso efectivo de estos controladores biológicos puede variar con el tiempo, la frecuencia, la velocidad de liberación y dispersión de los mismos. De igual forma, con otros factores involucrados en dicha liberación como: el clima imperante, el cultivo, el hospedero y el uso de productos químicos (Smith 1996).

Para el control biológico del género *Carmenta*, Navarro y Cabaña (2006) citan la liberación de parasitoides de huevos, entre los cuales recomiendan a las avispidas *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Asimismo, García y Montilla (2010) encontraron atacando pupas de *Carmenta* a himenópteros de los géneros: *Calliephialtes* (Ichneumonidae); *Brachymeria* (Chalcididae) y *Promicrogaster* (Braconidae). Sin embargo, se requiere estudiar muchos aspectos para conocer el efecto de diferentes factores ligados a la especie del parasitoide y al hospedero.

En vista de la escasa información, relacionada a la cría del perforador del fruto del cacao *C. foraseminis*, se plantearon los objetivos siguientes: a) determinar si el color y el tipo de envase afecta la emergencia y la duración de la fase adulta; b) evaluar la emergencia, la proporción

de machos y hembras en campo y en laboratorio; c) establecer la relación entre la emergencia de machos y hembras en los horarios matutino y vespertino en campo y d) obtener sus huevos en el campo y en laboratorio.

Este trabajo servirá para iniciar nuevas líneas de investigación, con base al estudio de la relación huésped-parasitoides, como en el caso de parasitoides del género *Carmentia*, para mejorar la eficiencia en el control del perforador del fruto del cacao.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en dos localidades del estado Aragua, Venezuela, en el laboratorio del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) ubicado en la ciudad de Maracay (10° 17'N 67° 37'O, 455 m.s.n.m.), municipio Mario Briceño Iragorry, igualmente, en la plantación comercial de cacao de la Hacienda Torres (HT) en Choroni, situada en la costa aragüeña (10° 30' 25"N 67° 36' 23"O, 100 m.s.n.m.), municipio Girardot.

En la HT se efectuaron los muestreos en las pilas de mazorcas de cacao dispuestas para el desgrane. De los frutos dañados por *C. foraseminis*, se colectaron las larvas y las pupas que se utilizaron en cada uno de los ensayos (Figura 1).



**FIGURA 1.** Muestreo de frutos dañados por *Carmentia foraseminis*.

En el INIA se hicieron los muestreos bajo las siguientes condiciones: humedad relativa (40 a 65%); temperatura (28 a 33 °C); fotoperíodo (12:12 h) luz:oscuridad, se realizaron las pruebas para determinar si el color y el

tipo de envase afectó la emergencia y duración de la fase adulta del perforador del fruto de cacao (PFC).

### Color del envase

Se realizaron dos ensayos con envases plásticos de 5 x 2 cm, tapados en la parte superior con tela de organdí, acomodados sobre otro recipiente plástico rectangular de 25 x 10 x 15 cm, donde previamente se colocó goma espuma y agua. Para el primer ensayo se utilizaron 28 pupas (14 en los envases blancos y 14 en los negros) y para el segundo 26 (13 en envases blancos y 13 en los negros).

### Tipo de recipiente

Se probaron tres tipos de envases: 38 viales plásticos transparentes de 5 x 2 cm, nueve vasos plásticos de 500 ml de capacidad y seis envases de vidrio 500 ml de capacidad. Los viales se asentaron sobre un envase plástico rectangular de 25 x 10 x 15 cm, donde previamente se colocó goma espuma y agua; de ellos 19 se cubrieron con tela de organdí y el resto se dejaron descubiertos. Para el análisis y procesamiento de los datos se utilizó la hoja de cálculo Excel y el paquete estadístico Statistix (Statistix 2003).

La información se organizó en tablas de contingencia donde el tipo de envase se ubicó en filas y las variables en columnas: número de pupas, número de adultos emergidos según el sexo del insecto, porcentaje de emergencia y duración promedio de la fase adulta (en valores absolutos). Se utilizó el análisis estadístico no paramétrico basado en la prueba de ji al cuadrado ( $\chi^2$ ).

Posteriormente, con base a los resultados obtenidos y por la facilidad de adquisición y manipulación, se seleccionaron los viales plásticos transparentes con cubierta para realizar los ensayos de emergencia y proporción de machos y hembras del PFC, tanto en el INIA como en la HT, la cual presentó los datos climáticos siguientes: Humedad relativa: 72 a 90%; temperatura: 22 a 29 °C y fotoperíodo 12:12 h luz:oscuridad. De igual forma, se utilizó la estadística no paramétrica basada en las pruebas binomial y  $\chi^2$ .

Adicionalmente, en la HT se registró la emergencia de machos y hembras del PFC en los horarios matutino (6 a.m. a 12 m) y vespertino (12:01 p.m a 6 p.m.), empleándose para el análisis de los datos la estadística no paramétrica basada en las pruebas  $\chi^2$  y binomial. Para los ensayos de emergencia, como los de proporción de machos y hembras del PFC, se realizaron ocho colectas en la HT en 8 d diferentes según el cronograma pautado

por los agricultores, los muestreos se desarrollaron como se citó anteriormente, el número de insectos hallados varió en cada colecta, utilizándose cuatro colectas para los ensayos ejecutados en la HT y otras cuatro para los ensayos efectuados en el INIA.

Con el fin de obtener los huevos del PFC en el INIA y en la HT, se emplearon diferentes números de machos y hembras, colocados en recipientes con diversos sustratos para la oviposición. En el INIA se utilizaron los receptáculos siguientes: a) jaulas de 45 x 30 x 50 cm, construidas con una bandeja plástica como base y con una estructura metálica forrada con tela de organdí (Figura 2); b) frascos de vidrio de 0,5 l de capacidad; c) frascos de vidrio de 5 l de capacidad; d) vasos plásticos opacos de 300 ml.



**FIGURA 2.** Jaulas de cría.

En los frascos de vidrio se colocaron toallas de papel humedecidas como sustrato para la oviposición, mientras que en las jaulas se colocaron por separado frutos de cacao en diferentes estados de maduración, preparados con agar incoloro de colores rojo, verde, amarillo y marrón, envueltos en papel parafilm (Figura 3).

Para la HT se emplearon las jaulas citadas con los sustratos señalados anteriormente, así como también, botellas plásticas transparentes de 1,5; 2 y 5 l de capacidad, forradas con una parte de tela de organdí (Figura 4). A las botellas se les colocaron por separado las bases para la oviposición siguientes: a) toallas de papel humedecido; b) secciones de cartón humedecido; c) segmentos de yute y d) tela de organdí humedecida, junto con fragmentos de mazorcas de cacao, de donde emergieron los insectos. Igualmente, cada botella se introdujo de forma individual en bolsa plástica opaca.



**FIGURA 3.** Sustratos preparados con agar, para la oviposición de *Carmenta foraseminis*.



**FIGURA 4.** Contenedor plástico transparente, forrado con tela de organdí.

En cada receptáculo, tanto para el INIA como para HT, se acomodaron los adultos en diferente número (un macho con una hembra, un macho con dos hembras, dos machos con una hembra, dos machos con dos hembras, dos machos con tres hembras, ocho machos con nueve hembras), según la disponibilidad para el momento de establecer el ensayo. Los huevos obtenidos se trasladaron a cápsulas de Petri, donde se le colocó un papel de filtro humedecido hasta su eclosión.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con relación al color del envase no se presentaron diferencias significativas ni para la emergencia de los adultos ni para la duración de la fase adulta; aunque la

menor duración del ciclo de vida, se observó con los envases negros. El porcentaje de emergencia fue menor (14,28%) para el primer ensayo; mientras que en el segundo se obtuvo una mayor emergencia (42,30%), de los cuales 26,92% correspondieron a los envases negros y 15,38% a los blancos. Con respecto al sexo de los insectos, alcanzó el mismo porcentaje de machos y hembras en el primer ensayo y en el segundo ensayo se logró 45 y 54,5% machos y hembras, respectivamente (Cuadro 1).

Respecto al tipo de envase, tampoco se presentaron diferencias significativas para la emergencia de adultos y la duración de la fase según el tipo de recipiente. Sin embargo, los porcentajes de emergencia de adultos variaron desde 11,11% en los vasos plásticos, hasta 52,63% en los viales plásticos cubiertos. En estos últimos se encontró la mayor duración de la fase adulta (Cuadro 2). Debido a estos resultados, se decidió usar los viales plásticos con cubierta para ensayos de emergencia en laboratorio y campo.

En laboratorio se demostró que hubo diferencias significativas en las proporciones de machos y hembras emergidos de las colectas 1, 3, y 4. Además, el porcentaje de emergencia de adultos, basado en el número de pupas de cada una de las colectas, varió desde 45% hasta 55% (Cuadro 3).

Estos resultados son similares a los citados para el sésido *C. mysiniformis*, el cual cuando se crió en condiciones de cautiverio tuvo que volver a sincronizar su ciclo de vida (Under Control, 2002). Igualmente, para el sésido *S. scitula*, Bergh *et al.* (2006) se consiguieron una alta variabilidad en la emergencia de machos y hembras. La duración de la fase adulta fue muy corta, desde 1 hasta

3 d (Cuadro 3), coincidiendo con lo indicado por Sánchez y Herrera (2005) para la misma especie.

A diferencia de lo observado en laboratorio, en la HT, se constató que no hubo diferencias significativas en las proporciones de machos y hembras emergidos para cada una de las colectas ni en la colecta total, siendo mayor la emergencia de adultos, la cual osciló entre 71,42 y 75,55% (Cuadro 4).

Con referencia a la proporción de adultos emergidos se demostró que hubo diferencias altamente significativas, para el número de pupas que lograron alcanzar la fase adulta; así como también para el lugar de emergencia, siendo mayor la emergencia en el campo (Cuadro 5). En cuanto al sexo no hubo diferencias significativas en la proporción de hembras y machos emergidos en campo y en laboratorio (Cuadro 6).

En la emergencia según el sexo en horario matutino y vespertino, se notó que para machos y hembras no hubo diferencias significativas en cada una de las colectas, ni en el total de la misma. Sin embargo, la emergencia fue mayor en la tarde (varió de 60 a 63,39%) y se presentaron diferencias significativas en las colectas uno, dos, cuatro y en el total.

En la colecta tres no ocurrieron diferencias significativas, quizás por el bajo número de insectos emergidos (Cuadros 7 y 8). Esto difiere de lo citado para *C. theobromae*, sésido plaga del cacao en Venezuela y para el sésido taladrador del duraznero, donde la emergencia de adultos se ubicó entre las 8:00 a.m. y 1:00 p.m. (Morillo *et al.*, 2009; Universidad de Florida 2008).

**CUADRO 1.** Emergencia y duración de la fase adulta de *Carmenta foraseminis*, según el color del envase en el laboratorio del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas.

N° ensayo	Color envase	N° pupas	N° adultos emergidos		Probabilidad	Duración promedio fase adulta en días (**)		Probabilidad (*)
			♂	♀		♂	♀	
1	blanco	14	1	1	0,2482	2	3	0,4386
	negro	14	0	2		0	1	
2	blanco	13	2	2	0,8190	2	2	1,00
	negro	13	3	4		1	1	

\*Prueba de ji al cuadrado ( $P \leq 0,05$ )

\*\*Con base en el 100% de los adultos

**CUADRO 2.** Emergencia y duración de la fase adulta de *Carmenta foraseminis*, según el tipo de envase en el laboratorio del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas.

Tipo envase	N° pupas	N° adultos emergidos		Emergencia %	Probabilidad	Duración promedio fase adulta en días**		Probabilidad*
		♂	♀			♂	♀	
Viales plásticos sin cubierta	19	2	1	15,78	0,5170	2	2	0,5724
Viales plásticos con cubierta	19	5	5	52,63		2	2	
Vasos plásticos	9	0	1	11,11		0	1	
Frasco de vidrio	6	1	0	16,66		1	0	

\*Prueba de ji al cuadrado ( $P \leq 0,05$ )

\*\*Con base a 100% de los adultos

**CUADRO 3.** Proporciones de adultos emergidos (machos, hembras) y duración de la fase adulta de *Carmenta foraseminis* en el laboratorio del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas.

N° colecta	N° pupas	N° adultos emergidos por sexo		Emergencia (%)	Probabilidad (*)	Duración promedio fase adulta $\bar{x} \pm ds$ (**)	
		♂	♀			♂	♀
1	60	10	20	50	0,0201	2,10 $\pm$ 1,73	1,7 $\pm$ 0,47
2	40	8	10	45	0,7389	2,62 $\pm$ 0,51	2,4 $\pm$ 0,84
3	25	10	2	48	0,0043	1,60 $\pm$ 0,51	1,5 $\pm$ 0,7
4	20	2	9	55	0,0105	2,00 $\pm$ 0,0	2,33 $\pm$ 0,44
<b>Total</b>	145	30	41		0,0933		

\*Prueba binomial para dos proporciones entre machos y hembras ( $P \leq 0,05$ )

\*\* $\bar{x} \pm ds$ : Número de días + desviación estándar.

**CUADRO 4.** Número de adultos y porcentaje de emergencia de *Carmenta foraseminis* en la Hacienda Torres.

N° colecta	N° pupas	N° adultos emergidos por sexo		Emergencia (%)	Probabilidad (*)
		♂	♀		
1	70	26	26	74,28	0,8445
2	90	30	38	75,55	0,2299
3	28	12	8	71,42	0,3428
4	60	20	24	73,33	0,5224
<b>Total</b>	248	88	96		0,4655

\*Prueba binomial para dos proporciones entre machos y hembras ( $P \leq 0,05$ ).

**CUADRO 5.** Número de adultos de *Carmenta foraseminis* y porcentaje de emergencia en el laboratorio del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas y en la Hacienda Torres.

Lugar emergencia	No pupas colectadas	No adultos emergidos	Emergencia (%)	Probabilidad (*)
Laboratorio	145	71	48,96	0,0000
Campo	248	184	74,19	

\*Prueba binomial para dos proporciones entre campo y laboratorio ( $P \leq 0,05$ ).

**CUADRO 6.** Número de machos y hembras de *Carmenta foraseminis* emergidos en campo y en laboratorio.

Lugar de emergencia	No adultos emergidos	No adultos emergidos por sexo		Probabilidad*
		♂	♀	
Campo	184	88	96	0,4237
Laboratorio	71	30	41	

\*Prueba de  $\chi^2$  al cuadrado ( $P \leq 0,05$ ).

**CUADRO 7.** Número de machos y hembras con porcentaje de emergencia de *Carmenta foraseminis* en horario matutino y vespertino en la Hacienda Torres.

N° colecta	Horario	♂	♀	Emergencia %	Total / colecta	Probabilidad*
1	Matutino	7	11	34,61	52	0,2436
	Vespertino	19	15	65,39		
2	Matutino	11	13	35,82	67	0,8966
	Vespertino	19	24	64,18		
3	Matutino	3	5	40	20	0,0935
	Vespertino	9	3	60		
4	Matutino	7	9	36,36	44	0,8637
	Vespertino	13	15	63,63		
<b>Total</b>	Matutino	28	38	36,06	183	0,2495
	Vespertino	60	57	63,93		

\*Prueba de **ji** al cuadrado ( $P \leq 0,05$ ).

**CUADRO 8.** Número de adultos emergidos de *Carmenta foraseminis* en horario matutino y vespertino en la Hacienda Torres.

N° colecta	N° Adultos emergidos		Total adultos	Probabilidad (*)
	Horario Matutino	emergidos vespertino		
1	18	34	52	0,0033
2	24	43	67	0,0019
3	8	12	20	0,3428
4	16	28	44	0,0190
<b>Total</b>	66	117	183	0,0000

\*Prueba binomial para dos proporciones entre matutino y vespertino ( $P \leq 0,05$ ).

Con respecto a los sustratos y contenedores para inducir la oviposición, no se obtuvieron huevos en laboratorio, pero sí en la botella plástica de 5 l en el campo que contenía 17 insectos, tela de yute humedecida, secciones de tela de organdí y secciones de cacao con exuvias de las pupas (Figura 5).

Esto difiere a lo hallado por Delgado (2004) en laboratorio para *C. foraseminis*, donde sí se encontró huevos en

las tiras de papel; pero concuerda a lo citado para otros sésidors por diferentes autores. Mientras que, Gentry y Wells (1982); Reed *et al.* (1988); Derksen (2006); Derksen *et al.* (2007) señalaron que las hembras del perforador del árbol del duraznero prefirieron colocar sus huevos en sustratos cebados. Por su parte, Karimpour *et al.* (2007) lograron la mejor oviposición de *Chamaesphecia schizoceriformis* (Kolenati) en plantas hospederas del insecto.

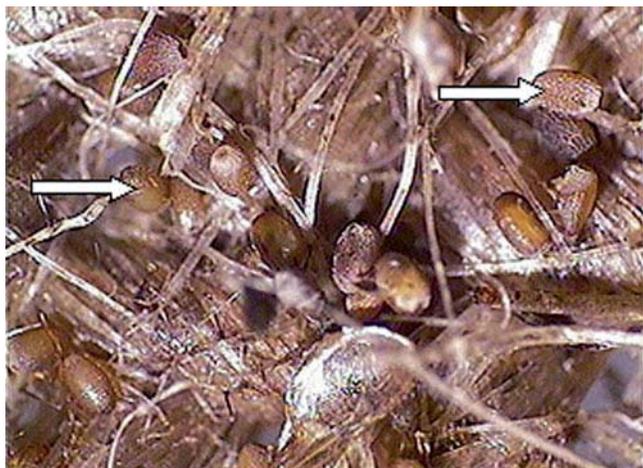


FIGURA 5. Huevos de *Carmenta foraseminis*.

Asimismo, Cottrell *et al.* (2008) refirieron que hembras de *S. pictipes* colocaron sus huevos en ramas de duraznero enfermas o dañadas mecánicamente e infectadas por larvas de su misma especie. También, Frank *et al.* (2010) encontraron diferencias significativas para el número de huevos colocados por la hembra de *S. scitula* en los sustratos evaluados, hallando la mayor cantidad en los envases contentivos con ramas de manzano.

En contraposición con Delgado (2004) que no logró la emergencia del perforador del fruto de cacao, en el presente trabajo hubo emergencia como se aprecia en la Figura 6.



FIGURA 6. Huevos y larva de *Carmenta foraseminis*.

Del mismo modo, es importante señalar que con relación al número de insectos usados en este ensayo, Morillo *et al.* (2009) probaron diferentes números de machos y hembras de *C. theobromae* en laboratorio, pero tampoco consiguieron ni huevos ni larvas, sólo observaron el apareamiento de una pareja.

## CONCLUSIONES

- El porcentaje de emergencia de adultos de *C. foraseminis* osciló entre 45 a 75,55%, alcanzando su mayor valor en la HT. Para esta especie la duración de la fase adulta fue muy corta, desde 1 hasta 3 d.
- Se obtuvo una proporción sexual ♂:♀ que varió entre 0,73:1 en laboratorio, y 0,91:1 en la HT. En este caso se consiguieron huevos fértiles solo en los recipientes que contenían los segmentos de cacao con las exuvias de *C. foraseminis*.
- Todos los datos derivados de esta pesquisa representan un avance significativo en el estudio de esta especie.
- Estos resultados servirán de base para establecer la cría masiva de *C. foraseminis* y poder realizar estudios futuros de las relaciones de hospedero y parasitoides del género *Carmenta*, que conlleven a mejorar la eficiencia en el control biológico del PFC.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aponte, A. 1982. Retorno del gran cacao. FONAIAP DIVULGA N° 3 marzo-abril. Disponible en: [http://sian.inia.gov.ve/repositorio/revistas\\_tec/FonaiapDivulga/fd03/texto/retorno.htm](http://sian.inia.gov.ve/repositorio/revistas_tec/FonaiapDivulga/fd03/texto/retorno.htm) Consultada: 23/05/2012.
- Bergh, J., T. Leskey, J. Sousa and A. Zhang. 2006. Diel periodicity of emergence and pre mating reproductive behaviors of adult dogwood borer (Lepidoptera: Sesiidae). *Environ. Entomol.* 35(2):435-442.
- Booth, D. Clearwing borers. 2005. Disponible en: <http://www.mygardenguide.com/pests/Clearwing%20borers.pdf>. Consultada: 20/08/2005.
- Consultoría y Capacitación 2011. Manual de Excel Avanzado. S. C., Méjico. Monografía. 36 p.
- Cottrell, T., J. Fuest and D. Horton. 2008. Influence of *Prunus* spp., peach cultivars, and bark damage

- on oviposition choices by the lesser peachtree borer (Lepidoptera: Sesiidae). *Environ. Entomol.* 37(6):1 508-1 513.
- Delgado, N. 2004. Taxonomía y bioecología de los perforadores (Lepidoptera: Sesiinae) del fruto del cacao (*Theobroma cacao*), en la región centro costera del estado Aragua. Trabajo de ascenso. Maracay, Ven. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía 98 p.
- Derksen, S. 2006. Semiochemical-mediated oviposition behavior by peachtree borer, *Synanthedon exitiosa* (Lepidoptera: Sesiidae). Tesis. Canadá. Univ. Simon Fraser. 53 p.
- Derksen, S., M. Chatterton, R. Gries, M. Aurelian, G. Judd and G. Gries. 2007. Semiochemical-mediated oviposition behavior by female peachtree borer, *Synanthedon exitiosa*. *Entomol. Exp. et Applicata.* 123(2):101-108.
- Dogwood, Borer. 2005. *Synanthedon scitula* (Harris), Sesiidae, Lepidoptera. Disponible en: [http://ipm.ncsu.edu/AG189/html/Dogwood\\_Borer.HTML](http://ipm.ncsu.edu/AG189/html/Dogwood_Borer.HTML) Consultada: 25/06/2005.
- Ellis, H. and D. Horton. 1999. Grape Root Borer. Vitacea polistiformes (Harris). Weevils and Borers. Roberts y Douce (Coordinators). Disponible en: <http://www.bugwood.org/factsheets/99-013.html>. Consultada: 25/06/2005.
- Frank, D., T. Leskey and J. Bergh. 2010. Development of a Rearing Methodology for the Dogwood Borer (Lepidoptera: Sesiidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 103(1):50-56.
- García, J. y R. Montilla. 2010. Hymenopteros parasitoides de insectos asociados a las plantaciones de cacao, en la región costera del estado Aragua, Venezuela. *Agronomía Trop.* 60(1):91-97
- Gentry, C. and J. Wells. 1982. Evidence of an oviposition stimulant for peachtree borer. *J. Ch. Ecol.* 8(8):1 125-1 132.
- Karimpour, Y., Y. Fathipour, A. Talebi y S. Moharrampour. 2007. Biology of *Chamaesphexia schizoceriformis* (Lep.: Sesiidae), a biocontrol agent of *Euphorbia boissieriana* (Euphorbiales: Euphorbiaceae) in north west of Iran. *J. Entomol. Soc. Iran* 26(2):35-45.
- Mora, J. 2004. Lepidópteros plagas en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Venezuela. Tesis. Maracay, Ven. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía 56 p.
- Morillo, F., D. Parra, P. Sánchez, J. Guerra, W. Muñoz, I. Contreras. y J. Pineda. 2001. Diagnóstico fitosanitario en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) realizados por el Departamento de Protección Vegetal del INIA-Miranda. XVII Congreso Venezolano de Entomología. Resúmenes 69 p.
- Morillo, F., P. Sánchez, B. Herrera and C. Liendo. 2009. Pupal development, longevity and behavior of *Carmenta theobromae* (Lepidoptera: Sesiidae). *Florida Entomol.* 92(2):355-361.
- Navarro, R. 2003. Seminarios CENIAP 2003. Alternativas de control cultural, etológico y biológico de insectos asociados al cacao en los estados Miranda y Aragua. Disponible en: <http://www.ceniap.gov.ve/seminarios/rnavarro.htm> Consultada: 05/09/2004.
- Navarro, R., J. Clavijo, R. Vidal y N. Delgado. 2001. *Carmenta foraseminis* Eichlin (Lepidoptera: Sesiidae) nuevo insecto plaga de importancia económica en el cacao de la zona norte costera del estado Aragua. XVII Congreso Venezolano de Entomología. Resúmenes.
- Navarro, R., J. Clavijo, R. Vidal y N. Delgado. 2004. Nuevo insecto perforador del fruto del cacao de importancia económica en Venezuela. *INIA Divulga* 2:27-30.
- Navarro, R. y W. Cabaña. 2006. Control de insectos perforadores de la mazorca del cacao en la zona central de Venezuela. *INIA Divulga* 7:19-26.
- Reed, D., K. Mkolajczak and C. Krause. 1988. Ovipositional behavior of lesser peachtree borer in presence of host-plant volatiles. *J. Chem. Ecol.* 14(1):237-252.
- Sánchez, J. y M. Herrera. 2005. Ciclo biológico del perforador del fruto de cacao *Carmenta foraseminis* en condiciones de laboratorio. XIX Congreso Venezolano de Entomología. Memorias. Trabajo 039.
- Smith, S. 1996. Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potencial of their use. *Annual Rev. Entomol.* 41:375-406

Solymar, B. 2005. Apple Borers. Disponible en: <http://www.gov.on.ca/OMAFRA/english/crops/facts/apborers.htm>. Consultada: 20/04/2005

Synanthedon tipuliformis (Clerk). Currant clearwing moth, Currant borer, Wasp moth 2005. Disponible en: <http://www.inra.fr/INTERNET/Produits/HYPPZ/RAVAGEUR/6syntip.htm#bio> Consultada: 25/06/2005 (No aparece citada en el trabajo)

Statistix. 2003. Statistix for Windows Manual. Copyright© 1985-2003. Analytical Software. Version 8.0., U.S.A.

Under Control. 2002. Pest Plant and Animal Management News. Number 19. Disponible en: [http://www.dse.vic.gov.au/CA256F310024B628/0/43C368CFDD18B1AFCA25705B0023C48B/\\$File/UC19.pdf](http://www.dse.vic.gov.au/CA256F310024B628/0/43C368CFDD18B1AFCA25705B0023C48B/$File/UC19.pdf). Consultada: 28/05/2008

Universidad de California. 2004. Pest Notes: Clearwing Moths. UC, ANR Publicación 7477. Disponible en: <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/PESTNOTES/pn7477.html>. Consultada: 17/08/2005

Universidad de Florida. 2008. Synanthedon exitiosa (Say) (Insecta: Lepidoptera: Sesiidae). Disponible en: [http://creatures.ifas.ufl.edu/fruit/borers/peachtree\\_borer.htm](http://creatures.ifas.ufl.edu/fruit/borers/peachtree_borer.htm) Consultada: 24/05/2008.

Welty, C. 1991. Squash Vine Borer HYG-2153-92. Ohio State University. Extension Fact Sheet Entomology 1991. Disponible en: <http://ohioline.osu.edu/hyg-fact/2000/2153.html> Consultada: 25/06/2005.



## CALIDAD DEL AGUA DE RIEGO Y AFECTACIÓN DE LOS SUELOS POR SALES EN LA PENÍNSULA DE PARAGUANÁ, VENEZUELA

### WATER QUALITY AND ITS AFFECT SOILS BY SALTS IN THE PARAGUANÁ PENINSULA, VENEZUELA

Ana Fernández\*, Roberto Villafañe\*\* y Ruperto Hernández\*\*\*

\*Investigadora. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Departamento de Producción Vegetal. Apdo. 4101. Coro, estado Falcón, Venezuela. \*\*Profesor Titular. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Instituto de Ingeniería Agrícola. Apdo. 4509. Maracay 2101, Estado Aragua. Venezuela. \*\*\*Profesor Agregado. Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda. Facultad de Agronomía. Apdo. 4101. Coro, estado Falcón, Venezuela.  
Correo electrónico: afernandez@inia.gob.ve

#### RESUMEN

Se realizó una investigación diagnóstica en doce unidades de producción de la península de Paraguaná, estado Falcón, Venezuela, con el objetivo de relacionar la afectación de los suelos por sales con la condición de uso del suelo, la profundidad de muestreo, el porcentaje de humedad de la pasta (%H) y la calidad del agua de riego. Se colectaron muestras de agua y de suelo en tres condiciones de uso: vegetación nativa (VN), cultivo (C) y en descanso (D), a 20, 40 y 60 cm de profundidad. Con los datos de conductividad eléctrica del extracto de la pasta del suelo a 25 °C (CEe) se analizó el efecto de la condición de uso y la profundidad de muestreo, colocando en un cuadro de doble entrada el número de muestras con valores de salinidad igual o superior a 2 dS m<sup>-1</sup> en cada combinación de estas variables categóricas, encontrando en los suelos bajo cultivo el mayor número de muestras con salinidad igual o superior al valor preestablecido. El efecto del %H sobre la CEe se evaluó en un análisis de correlación, obteniéndose un valor bajo ( $r = 0,426$   $P = 0,0000$ ). El efecto de la calidad del agua sobre la afectación de los suelos por sales se llevó a cabo con dos calificaciones predictivas: Ayers y Westcot (1985) y Villafañe (2011). Las aguas de riego califican con restricciones fuertes por salinidad. Las predicciones fueron acertadas, aunque los suelos mostraron valores de CEe y relación de adsorción de sodio, inferiores a los esperados; quizás por la textura, en su mayoría arenosa.

**Palabras Clave:** composición salina; condición de uso del suelo; conductividad eléctrica; relación de adsorción de sodio; textura del suelo.

#### SUMMARY

A diagnostic research was done to assess the relationship between the affectation of soils by salts and soil use, sample depth, saturated pasta percentage (H), and irrigation water quality. Samples of water and soil were collected from twelve farms in the Paraguaná Peninsula, north of Falcón state, Venezuela. Soil samples were taken under three soil use conditions: under native vegetation (VN), under cultivation (C) and fallow (D). Each of those samples were taken at three different depths: 0-20, 20-40 and 40-60 cm. Using data from the soil electrical conductivity of a saturation extract at 25 °C (ECe) the effects of soil use and sample depth were analyzed by placing in a table of double entrance the number of samples with  $ECe \geq 2$  dS m<sup>-1</sup> in each combination of these categorical variables, finding that soils under cultivation (C) had the highest number of samples with  $ECe \geq 2$  dS m<sup>-1</sup>. The effect of the saturation percentage (H) was evaluated through a correlation between H and the ECe, obtaining low correlation ( $r=0.426$   $P= 0.0000$ ). Ayers and Westcot (1985) and Villafañe (2011) procedures for assessing the effect of salts of irrigation water on soils (irrigation water quality) were used. Results indicated strong restrictions that may limit irrigation water utilization due the effect of NaCl of irrigation water on soil. Nevertheless, the sampled soils showed lower values of the ECe and sodium adsorption ratio which may be due to the sandy texture in most of sampled soils.

**Key Words:** saline composition; land use; soil texture; sodium adsorption ratio; soil electrical conductivity.

## INTRODUCCIÓN

La península de Paraguaná estado Falcón, Venezuela, ha incrementado su superficie agrícola bajo riego en los últimos 20 años. Este incremento se debe a que en el año 1988 la zona fue declarada libre de la mosca de la fruta, permitiendo la producción de frutos como melón y patilla para la exportación hacia las Antillas y los Estados Unidos. Actualmente en los sistemas de producción se utiliza el riego por goteo con tecnología de acolchado, prevaleciendo la siembra de hortalizas como melón, patilla, pimentón y cebolla, con agua de riego subterránea pero sin previo análisis de suelo y agua. Sembrando dos ciclos al año y dejando en descanso (D) los suelos durante el período de lluvia, específicamente en los meses de septiembre a diciembre y la preparación de las tierras a partir de enero.

Los rendimientos de los cultivos han permitido que se incremente la actividad agrícola en la zona. El aumento de la superficie agrícola bajo riego y la escasez del recurso hídrico forzó la adopción de tecnologías de riego más eficientes, tales como la de goteo, pero el agua disponible, además de ser escasa es salina, lo que aumenta los riesgos de afectación de los suelos (Ayers y Westcot, 1985; Ragab *et al.*, 2008); de allí que la sustentabilidad de la agricultura en la zona dependerá necesariamente del manejo adecuado de los balances de agua y sales, para lo cual es necesario conocer las características de las aguas y los suelos, el manejo de los sistemas de producción y el comportamiento de la precipitación pluvial (Rhoades *et al.*, 1992; Villafañe y Pla, 1994).

La acumulación de sales en los suelos está determinada por el desbalance entre los aportes y las salidas en el perfil, influyendo en ello la composición y concentración iónica de las aguas de riego, las prácticas de fertilización y enmendado, la efectividad de las lluvias en el lavado, las propiedades hidráulicas del perfil y el manejo del riego (USSLS, 1954; Shalhevet, 1974; Pla, 1971; Rhoades, 1982; Ayers y Westcot, 1987; Villafañe, 1993). La calidad del agua de riego ha sido discutida en muchos trabajos (Ayers y Westcot, 1987; Rhoades, 1983; Pla, 1983; Shainberg y Letey, 1984; Villafañe, 1999). La calidad del agua para el riego no solo depende de su composición y concentración salina, también depende del tipo de suelo (textura y mineralogía) y del cultivo.

Existen diferentes interpretaciones para calificar las aguas de riego. Pla y Dappo (1974) proponen un modelo basado en un balance independiente de los iones más comunes en las aguas de riego y en la solución del suelo, de acuerdo

con la fracción efectiva de lavado y las solubilidades máximas de las sales bajo diferentes condiciones.

Ese sistema, al no asumir condiciones particulares para su uso, no tiene restricciones para el diagnóstico de problemas potenciales de salinización bajo las condiciones de clima, suelo, cultivos y manejo del riego. Ayers y Westcot (1987) sugieren unas directrices técnicas para interpretar la calidad de las aguas para el riego. Villafañe (2011) propone un procedimiento de evaluación basado en la magnitud del requerimiento de lavado (RL) y la cantidad de enmienda necesaria. La magnitud del requerimiento califica el riesgo de salinización y la cantidad de enmienda califica el riesgo de sodificación.

Se realizó este estudio con la finalidad de identificar la afectación de suelos regados con agua salinas, el diagnóstico efectuado en doce unidades de producción representativas de la península de Paraguaná para determinar la relación de la composición y concentración salina del agua de riego con las condiciones texturales del perfil, manejo del riego y manejo de los suelos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación geográfica del estudio

El estudio se llevó a cabo en doce unidades de producción de la península de Paraguaná, localizadas en los municipios Falcón, Carirubana y Los Taques, donde están las zonas agrícolas más importantes de la península. El clima de la zona es semiárido con un promedio anual de precipitación entre 200 mm en Los Taques y 500 mm en los otros dos municipios.

Para la selección de las unidades de producción se tuvo el apoyo del personal de asistencia técnica de la Fundación Proparaguaná, utilizando como criterios de escogencia la presencia de suelos afectados por sales y el interés del agricultor en implementar correctivos. Antes de realizar los muestreos de agua y suelo se visitaron las unidades de producción para recopilar información sobre el tipo de manejo y observar señales de salinidad en los suelos.

### Muestreo de agua y suelo

Las muestras de agua se tomaron en la descarga de los pozos operativos y en lagunas cuando éstas almacenaban tanto agua subterránea como superficial o cuando eran abastecidas por más de un pozo (Figura y Cuadro 1).



**FIGURA.** Ubicación de las unidades de producción muestreadas (península de Paraguaná, estado Falcón, Venezuela).

**CUADRO 1.** Coordenadas geográficas (UTM) de los sitios de muestreo de agua.

Nº	Unidad de producción	Fuente de agua	Profundidad de la bomba (m)	Cota terreno (m)	Coordenada Norte	Coordenada Este
1	Santa Bárbara	Subterránea	36	60	1336826	393424
2	San Eugenio	Subterránea	50	25	1334232	397156
3	Terranova	Subterránea	53	30	1333163	397103
4	Cooperativa Cuabana	Subterránea	85	106	1319947	397744
5	El Yesal	Subterránea	84	79	1309706	392214
6	El sueño de mi padre	Subterránea	82	82	1309406	392058
7	Las 5 PM	Subterránea	88	78	1308980	390628
8	La Encantada	Subterránea	89	57	1309244	389468
9	La Productiva	Subterránea	60	60	1302864	400216
10	El Labrador	Mezcla (Laguna)	50	46	1301999	399713
11	Angola	Subterránea	18	16	1298162	376051
12	La Providencia	Subterránea	18	17	1297634	376547

El muestreo de suelo se realizó en tres sitios de cada unidad de producción según las siguientes condiciones de uso del suelo:

- Suelo con vegetación nativa (VN)
- Suelo con cultivo (C)
- Suelo en descanso (D)

Las muestras de suelo se tomaron con barreno y palín según la condición textural y estructural del suelo, manifiestas en el comportamiento del mismo durante el proceso de muestreo.

En cada sitio de muestreo se tomaron muestras a tres profundidades (0-20, 20-40 y 40-60 cm), obteniéndose submuestras por profundidad, que conformaron nueve muestras compuestas representativas por cada unidad de producción. Los mismos fueron georeferenciados y los criterios utilizados para definir las profundidades de muestreo fueron los siguientes:

- La labranza generalmente afecta los primeros 20 cm.
- Las raíces de los cultivos hortícolas que se siembran en la zona pueden llegar hasta los 40 cm.
- Si el riego es suficiente, las sales pueden acumularse entre los 40 y 60 cm.

Para los suelos en descanso que no tenían tiempo suficiente en dicha condición, se tomaron las muestras en el mes de enero de 2009.

Las primeras ocho unidades de producción se localizaron en el municipio Falcón, la unidad nueve y diez en el municipio Carirubana y las dos últimas en el municipio Los Taques.

### Sistemas de producción

Los productores realizan dos siembras de hortalizas al año, una en febrero para cosechar en mayo y otra en mayo para cosechar en agosto. Después de la segunda cosecha, se establece o no un cultivo de secano (maíz o sorgo), dejando luego los suelos en descanso durante dos años para que se recuperen de manera natural con la lluvia.

En el Cuadro 2 se indican los cultivos hortícolas que se manejan con riego de alta frecuencia tipo goteo. Estos riegos se realizaron de manera diaria o interdiaria con un tiempo de riego de una a dos horas.

Todos los productores utilizan la técnica del fertirriego contemplada en los programas de fertilización en la aplicación de calcio y microelementos, además de los macroelementos nitrógeno, fósforo y potasio.

De las doce unidades de producción incluidas en el estudio, diez tenían melón al momento del muestreo y dos (unidades de producción sexta y octava) estaban cultivadas con cebolla. Aunque el melón tiene un nivel umbral de salinidad menor al de la cebolla, su rendimiento decae menos con el aumento de la salinidad en el suelo.

**CUADRO 2.** Cultivos utilizados en la península de Paraguaná y su tolerancia a la salinidad según Ayers y Westcot (1985).

Cultivo	Comportamiento ante la salinidad del suelo	
	Nivel umbral (dS m <sup>-1</sup> )	Decaimiento del rendimiento relativo (%) por unidad de incremento de la salinidad
Sorgo ( <i>Sorghum</i> spp.)	6,8	16
Calabacín ( <i>Cucurbita pepo</i> L.)	4,9	10,5
Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> L.)	2,5	9,9
Pepino ( <i>Cucumis sativus</i> L.)	2,5	13
Maíz ( <i>Zea mays</i> L.)	1,7	11,9
Pimentón ( <i>Capsicum annuum</i> L.)	1,5	14
Melón ( <i>Cucumis melo</i> L.)	1,0	8,4
Cebolla ( <i>Allium cepa</i> L.)	1,2	16
Patilla ( <i>Citrullus lanatus</i> L.)	Sensible	-

Por esta razón, para el cálculo de los requerimientos de lavado se consideró como salinidad límite del suelo superficial el valor de conductividad eléctrica que permite el 80% del rendimiento máximo del cultivo, resultando 3,4 dS m<sup>-1</sup> para los suelos con melón y 2,5 dS m<sup>-1</sup> para los suelos con cebolla.

### Procesamiento de las muestras de agua y de suelo

Las muestras de agua y de suelo fueron procesadas y analizadas en el Laboratorio de Suelos y Aguas del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-CENIAP), determinando la conductividad eléctrica y los iones Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, CO<sub>3</sub><sup>=</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>=</sup>, Cl<sup>-</sup> y SO<sub>4</sub><sup>=</sup> en las aguas y en los extractos de pastas de suelo saturado. El pH se midió con potenciómetro y la conductividad eléctrica con conductímetro, expresando esta última dS m<sup>-1</sup> a 25 °C. En las muestras de suelo el pH fue medido en la pasta. Los cationes Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> se midieron con un equipo de absorción atómica marca Perkin Elmer 1300.

Los aniones CO<sub>3</sub><sup>=</sup> y HCO<sub>3</sub><sup>=</sup>, se determinaron por titulación utilizando como reactivo ácido sulfúrico 0,01 N, alcanzando los puntos de titulación con un potenciómetro; el Cl<sup>-</sup> se calculó por titulación utilizando como reactivo titulante nitrato de plata y como indicador cromato de potasio, y el SO<sub>4</sub><sup>=</sup> se midió en un Spectronic marca Génesis UV, utilizando cloruro de bario como reactivo y una solución ácida acondicionadora contentiva de glicerina para estabilizar la suspensión de sulfato de bario producto de la reacción. En general se siguieron los protocolos sugeridos por United States Salinity Laboratory Staff (USSLS, 1954) y Pla (1969), con las adaptaciones descritas en este párrafo.

Adicionalmente, se evaluó la textura para definir el coeficiente de eficiencia de lavado de sales (Villafañe, 2011); en este caso el método empleado fue el de sedimentación, utilizando un hidrómetro Bouyoucos.

### Interpretación de la información

Con los valores de salinidad del suelo medidos en términos de la conductividad eléctrica del extracto a 25 °C (CEe) se elaboró un cuadro de doble entrada considerando la condición de uso del suelo y la profundidad de muestreo, para visualizar el efecto de estas variables categóricas en el comportamiento de la CEe. A los efectos se consideró como muestra salina toda aquella que mostrara un valor de CEe igual o superior a 2 dS m<sup>-1</sup>, valor reconocido como suelo salino desde el punto de vista agronómico (USSLS, 1954; Abrol *et al.*, 1988; Schleiff, 2006).

Con los valores porcentuales de arena, limo y arcilla se determinó para cada muestra de suelo el índice textural (IT) ideado por Sillanpää (1982):

$$IT = 1,0 * (\% \text{fracción arcilla}) + 0,3 * (\% \text{fracción limo}) + 0,1 (\% \text{fracción arena})$$

Para sopesar el efecto del porcentaje de saturación de la pasta (H) en el proceso de acumulación de sales se corrió la prueba de correlación de Pearson entre CEe y H. Esta correlación se llevó a cabo debido a la relación que existe entre el porcentaje de saturación de la pasta y la capacidad de retención de agua del suelo (USSLS, 1954).

La calidad de las aguas de riego y su efecto sobre los suelos se analizó utilizando como guías las directrices de Ayers y Westcot (1985) y el programa Sosalriego (Villafañe, 2011). Para la calificación por salinidad se utilizó Ayers y Westcot (1985) por ser adecuada para las condiciones árida y semiárida del lugar y a Villafañe (2011) porque aporta valores de requerimiento de lavado (RL), calculados con información textural del suelo como índice de la eficiencia de lavado, tolerancia del cultivo a las sales y magnitud de la precipitación pluvial.

En cuanto a los riesgos de sodificación del suelo por el agua de riego, en las muestras de agua se determinaron los índices de sodicidad RASr (USSLS, 1954) y RASmod (Villafañe, 2011), equivalente este último a la RASo (Suárez, 1981), mientras que con los valores de Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup> del extracto de la pasta del suelo saturado se determinó la relación de adsorción de sodio del suelo (RASe) para contrastarlo con la CEe.

De esta manera se evaluó la afectación por sodio, utilizando la propuesta de Villafañe (2011) derivada de valores indicados en las directrices técnicas sugeridas por Ayers y Westcot (1985):

$$\text{Si } RASe > 8,689 * CEe - 4,134 \text{ hay posibilidades de dispersión del suelo por sodio}$$

Valores de RASe por encima de lo indicado en la ecuación anterior se consideran valores de riesgo.

### Análisis estadísticos

Con los valores de CEe se realizó un análisis de varianza utilizando un diseño factorial condición\* profundidad\*CER\*IT, para precisar la influencia de tales factores y algunas de sus interacciones en la magnitud de la salinidad en el suelo, complementando con un análisis de regresión múltiple entre la CEe y las variables CER e IT.

Con las fracciones texturales y la humedad de la pasta también se realizaron análisis de regresión múltiple, utilizando el procedimiento de descarte de variables (stepwise).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Salinidad del suelo

Se puede deducir que el perfil más afectado por sales en cada unidad de producción no es el suelo cultivado o en descanso, y no siempre la salinidad es mayor en la superficie de los suelos cultivados y en el fondo de los suelos en descanso (Cuadro 3).

Por otra parte, los suelos de las unidades de producción tres y cinco presentan una salinidad inferior a la del agua de riego (Cuadro 6) en las tres condiciones de uso y la unidad de producción cuatro es la única que presenta una salinidad inferior a  $2 \text{ dS m}^{-1}$  en el perfil bajo cultivo a pesar de ser regada con un agua de riego algo salina. Posiblemente los productores de estas tres unidades de producción (tres, cuatro y cinco) utilizan otra fuente de agua menos salina no reportada y/o sus suelos, por ser muy arenosos (Cuadro 5), retienen poca agua y en consecuencia pocas sales.

La salinidad encontrada en los dos primeros estratos de los suelos bajo cultivo resultó inferior a los niveles pre-establecidos para los cultivos cebolla y melón ( $2,5$  y  $3,4 \text{ dS m}^{-1}$ , respectivamente), excepto en la unidad de producción seis con cebolla, así como las unidades de producción nueve y once con melón.

Del mismo modo, se visualiza que la mayoría de las muestras colectadas en los suelos bajo cultivo (Cuadro 4) son salinas ( $\geq 2 \text{ dS m}^{-1}$ ) en las tres profundidades seguidas de las muestras de los suelos bajo descanso, evidenciando la incidencia del manejo bajo riego en el proceso de salinización.

La afectación por sales en suelos con vegetación nativa de las unidades de producción cuatro, siete, ocho, nueve, diez y once (50% de las unidades de producción muestreadas) pudiendo ser salinos por su condición natural, previsible en un ambiente semiárido y cercano al mar.

### Salinidad, textura y retención de agua en la pasta

Las texturas arenosas dominan en las unidades de producción del municipio Falcón y las franco arcillo

arenosas en los otros dos municipios (Cuadro 5). No siempre la textura más pesada está asociada al suelo más salino pero sí a los mayores porcentajes de humedad de la pasta.

La correlación encontrada entre el grado de salinidad de las muestras y el porcentaje de humedad de la pasta (H) resultó baja ( $r= 0,426$   $p= 0,0000$ ) y cuando la correlación se hizo considerando sólo las muestras de los suelos bajo cultivo el coeficiente fue aún menor. La diferencia de salinidad de las aguas de riego puede estar incidiendo en estos resultados, además que la textura es una propiedad del suelo que interviene en la retención de humedad.

En términos generales valores de IT inferiores a 20 corresponden a suelos arenosos o areno-francos; valores entre 20 y 30 corresponden a suelos franco-arenosos, valores entre 30 y 40 corresponde a suelos francos a franco-arcillo-limosos, valores entre 40 y 50 corresponden a suelos franco-arcillosos o arcillo-arenosos y valores mayores de 50 corresponden a suelos arcillosos.

La mayoría de las muestras resultaron de textura franco-arenosa. Los suelos de las unidades de producción nueve, diez y once resultaron ser los más arcillosos en todas las condiciones de uso, mientras que las unidades de producción uno, dos, tres, cuatro, cinco y ocho presentaron las texturas más gruesas (Cuadro 5). Como la textura y en consecuencia el IT permite predecir la capacidad de retención de agua y por lo tanto la posibilidad de acumulación de sales, el análisis de regresión múltiple entre la CEe y las variables independientes CEr e IT corroboró alta significación para la variable IT ( $P=0,0000$ ), arrojando la siguiente ecuación de predicción con un  $R^2 = 0,23$ :

$$CEe = 0,085*IT + 0,383$$

Cuando se extrajo del análisis la unidad de producción tres por presentar una salinidad muy alta en el agua pero muy baja en los suelos, la regresión múltiple resultó altamente significativa ( $P < 0,0000$ ) para ambas variables, arrojando una ecuación de predicción con un  $R^2 = 0,37$ :

$$CEe = 0,079*IT + 1,442*CEr - 3,909$$

Es decir, ambas variables contribuyen con la salinización del suelo, pero debido al valor bajo de  $R^2$ , otras variables, tales como la salinidad inicial del suelo, la intensidad del riego, el grado de lixiviación con el agua de riego y el tiempo bajo cultivo, entre otras, pudieran también contribuir en el proceso.

**CUADRO 3.** Conductividad eléctrica del extracto (CEe) y porcentaje de saturación de la pasta (H).

Unidad de producción y cultivo	Profundidad (cm)	(CEe (dS m <sup>-1</sup> ))			H (%)		
		VN	C	D	VN	C	D
1 (melón)	0-20	1,2	2,9	0,8	25,44	22,82	22,70
	20-40	0,9	3,1	0,5	22,97	22,82	22,70
	40-60	0,8	3,4	0,5	22,84	22,82	22,70
2 (melón)	0-20	0,6	3,1	2,1	24,74	28,28	25,28
	20-40	1,6	2,9	0,9	21,61	25,28	23,25
	40-60	1,8	2,7	0,5	21,47	24,78	21,45
3 (melón)	0-20	0,6	3,0	0,8	33,59	30,91	25,40
	20-40	0,4	2,2	0,5	32,08	31,53	23,25
	40-60	0,4	2,1	0,5	31,11	31,12	26,05
4 (melón)	0-20	5,8	1,9	4,0	34,19	26,88	27,67
	20-40	4,3	1,8	3,7	32,24	25,28	25,24
	40-60	3,7	1,8	3,2	28,18	22,98	24,74
5 (melón)	0-20	1,6	2,7	0,8	31,23	29,58	29,31
	20-40	1,5	2,6	0,6	30,12	28,47	28,18
	40-60	1,4	2,3	0,9	30,29	25,44	26,09
6 (cebolla)	0-20	1,3	4,0	3,1	37,32	34,85	34,45
	20-40	1,4	3,9	3,2	36,59	38,93	35,15
	40-60	1,5	12,4	3,3	38,21	35,61	33,59
7 (melón)	0-20	2,3	2,5	4,1	33,40	37,65	37,65
	20-40	2,2	2,4	4,2	34,14	38,12	38,42
	40-60	2,1	2,8	3,9	35,65	36,42	36,12
8 (cebolla)	0-20	5,4	2,8	3,7	36,93	32,20	35,40
	20-40	4,9	2,9	3,4	35,75	33,64	38,22
	40-60	4,1	2,6	3,8	37,25	31,40	36,12
9 (melón)	0-20	3,2	6,4	5,4	34,75	44,91	53,72
	20-40	5,8	8,8	5,1	36,55	36,43	50,12
	40-60	7,9	8,2	4,8	38,42	38,26	48,43
10 (melón)	0-20	3,2	2,3	6,2	34,75	29,18	31,46
	20-40	5,8	2,3	6,9	36,55	29,48	32,20
	40-60	7,9	2,4	6,8	38,42	34,22	33,40
11 (melón)	0-20	1,9	3,6	4,5	42,38	44,72	42,10
	20-40	1,9	3,8	4,1	38,42	43,23	42,16
	40-60	1,7	3,8	3,9	39,18	46,13	39,65
12 (melón)	0-20	5,2	2,1	2,0	51,15	44,89	46,63
	20-40	5,2	2,0	1,9	53,62	42,18	45,43
	40-60	4,9	1,9	1,8	50,96	46,72	46,23

**CUADRO 4.** Número de muestras de suelo con salinidad igual o superior a 2 dS m<sup>-1</sup> en el extracto de la pasta.

Profundidad de muestreo (cm)	Condición de uso		
	Vegetación nativa	Cultivado	En descanso
0 -20	6 (50)	11 (92)	9 (75)
20 – 40	6 (50)	11 (92)	7 (58)
40 – 60	6 (50)	10 (83)	7 (58)

( )Porcentaje dentro de cada combinación  
Condición de Uso-Profundidad

**CUADRO 5.** Textura de cada muestra.

Unidad de producción	Profundidad	Textura		
		VN	C	D
1	0-20	aF	a	a
	20-40	aF	aF	aF
	40-60	aF	aF	aF
2	0-20	aF	Fa	Fa
	20-40	a	Fa	aF
	40-60	a	FAL	a
3	0-20	Fa	aF	Fa
	20-40	FAL	Fa	Fa
	40-60	Fa	Fa	aF
4	0-20	Fa	Fa	Fa
	20-40	Fa	Fa	aF
	40-60	Fa	Fa	Fa
5	0-20	Fa	Fa	Fa
	20-40	Fa	Fa	aF
	40-60	Fa	Fa	Fa
6	0-20	Fa	Fa	F
	20-40	FAL	FAL	FAL
	40-60	FAL	FAL	FA
7	0-20	Fa	FAL	Fa
	20-40	Fa	FAL	FAL
	40-60	Fa	FAL	FAL

.../... continúa CUADRO 5

../... continuación CUADRO 5

Unidad de producción	Profundidad	Textura		
		VN	C	D
8	0-20	Fa	Fa	Fa
	20-40	Fa	Fa	Fa
	40-60	Fa	Fa	Fa
9	0-20	FAL	FA	FAL
	20-40	FAL	FA	FA
	40-60	FAL	FA	A
10	0-20	FAL	FA	Aa
	20-40	FAL	FAL	FAL
	40-60	FAL	Aa	FAL
11	0-20	Aa	A	A
	20-40	FA	Aa	A
	40-60	FAL	A	A
12	0-20	FA	FAL	Fa
	20-40	FAL	F	FAL
	40-60	FAL	FAL	FAL

Arenoso (a), areno francoso (aF), franco arenoso (Fa), franco arcilloso (FA), franco arcillo limoso (FAL), arcilloso (A), arcillo arenoso (Aa).

### Calidad del agua y afectación del suelo

En el Cuadro 6 puede observarse que dentro de las sales de baja solubilidad, el  $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$  está presente en todas las aguas, mientras que el  $\text{Mg}(\text{HCO}_3)_2$  está presente donde no lo está el  $\text{CaSO}_4$ . Dentro de las sales altamente solubles, el  $\text{NaCl}$  domina sobre el  $\text{MgSO}_4$  y el  $\text{MgCl}_2$ . Esto puede conducir a un proceso de concentración de las sales de cloruro de sodio y de magnesio y de sulfato de magnesio, limitando el aumento de la RASe.

Particularmente, el agua de la unidad de producción diez presenta un pH superior a 8,2, pero como se puede observar, la misma no contiene sales de sodio de hidrólisis alcalina.

- Las cotas de terreno y la profundidad de instalación de las bombas (Cuadro 1) hacen presumir influencia del mar en la salinidad de algunas aguas, pero la posición de la bomba respecto al nivel del mar no guarda relación con la posible intrusión salina. Los niveles de bombeo (información no disponible) habrían arrojado mejor información sobre la posible intrusión salina; sin embargo, las sales más solubles presentes en las

aguas de riego son las más abundantes en el agua de mar ( $\text{NaCl}$ ,  $\text{MgCl}_2$  y  $\text{MgSO}_4$ ), por lo que se puede presumir que la salinidad encontrada en los suelos es menor a la esperada, posiblemente por la práctica de descanso que realizan los productores y favorecida en muchos casos por la alta permeabilidad y baja retención de agua de los suelos.

En todos los casos la conductividad eléctrica de las aguas (CEr) supera los  $0,7 \text{ dS m}^{-1}$ , lo que demuestra riesgo de salinización de los suelos según las directrices de Ayers y Westcot (1985). Las aguas menos salinas corresponden a los pozos de las unidades de producción once y doce que son los predios topográficamente más bajos y tienen una CEr de  $2,3 \text{ dS m}^{-1}$ .

Los valores de requerimiento de lavado (RL) calculados con los valores esperados de CEe para un 80% del rendimiento del cultivo (melón o cebolla según el caso), indican alto a muy alto riesgo de salinización según la propuesta de Villafañe (2011); alto para las aguas de las unidades de producción uno, dos, cuatro y cinco y muy alto para el resto.

**CUADRO 6.** Composición salina de las aguas y requerimientos de lavado (RL) para reducir la acumulación de sales en el suelo.

Variables	Unidad	Unidades de producción											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
pH		7,8	7,6	7,9	7,8	8,1	7,7	8,1	8,1	7,8	8,9	7,9	7,5
CEr	dS m <sup>-1</sup>	2,7	2,9	6,8	3,4	3,3	3,5	3,6	3,3	4,3	3,7	2,3	2,3
CaCO <sub>3</sub>	mmol <sub>c</sub> l <sup>-1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,8	0	0
Ca(HCO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	mmol <sub>c</sub> l <sup>-1</sup>	2,8	6,2	2,6	7,2	7,2	7,2	7,4	7,8	2,1	5,9	3,6	2,1
Mg(HCO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	mmol <sub>c</sub> l <sup>-1</sup>	5,0	1,8	0	0	0,1	0	0	0,4	0	2,2	2,5	4,8
CaSO <sub>4</sub>	mmol <sub>c</sub> l <sup>-1</sup>	0	0	8,0	0,3	0	0,7	0,5	0	1,7	0	0	0
MgSO <sub>4</sub>	mmol <sub>c</sub> l <sup>-1</sup>	2,6	1,5	3,1	2,0	4,1	2,9	4,1	3,7	1,8	2,4	1,7	1,3
NaCl	mmol <sub>c</sub> l <sup>-1</sup>	16,4	15,5	42,6	16,5	15,7	19,5	18,9	16,7	20,9	15,7	12,7	10,8
MgCl <sub>2</sub>	mmol <sub>c</sub> l <sup>-1</sup>	0,6	4,3	12,1	6,9	6,6	2,6	3,2	2,5	12,8	8,0	2,9	2,4
RL		0,3	0,3	0,7	0,3	0,3	0,5	0,4	0,4	0,6	0,5	0,4	0,4

Por la magnitud de la CEr y de acuerdo las directrices de la FAO, todas las aguas presentan restricciones severas, excepto las de las unidades de producción uno, dos, once y doce, por tener una CEr < 3 dS m<sup>-1</sup>. Es de hacer notar que los suelos de las unidades de producción once y doce son franco limosos o franco arcillo limosos con cierta restricción en el drenaje interno y están en la zona de la península con menor precipitación pluvial, aspectos que pueden favorecer el proceso de salinización.

Los sistemas de calificación aun cuando coinciden en el diagnóstico con lo encontrado en los suelos, subestiman el proceso de salinización. Por otra parte y de acuerdo con la información reportada por los productores sobre el comportamiento de las cosechas anteriores y las condiciones observadas en los cultivos durante los muestreos de agua y suelo, las plantas manifiestan crecimiento retardado y en algunos casos algunas quemaduras en el borde de las hojas, lo cual es explicable en suelos con más sales por litro de agua útil.

Entre las sales menos solubles, el Mg(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> está ausente en la mayoría de las muestras de suelo, independientemente de la condición de uso, mientras que el CaSO<sub>4</sub> no está presente en la mayoría de las muestras de agua; aunque se aprecia su presencia en el suelo. Entre

las sales solubles la predominante es el NaCl, seguido del MgCl<sub>2</sub> o del CaCl<sub>2</sub>, esta última sal no presente en las aguas pero posibilidad de formarse según la dinámica geoquímica en el suelo, pudiéndose atribuir que esto es debido a que los cloruros y los sulfatos son las sales más frecuentes y las más comunes en suelos cercanos a la costa o al mar. Sólo en las unidades de producción uno, tres, cuatro, cinco, diez y doce, se detectó la presencia de MgSO<sub>4</sub> (Cuadro 7).

En los suelos predominan las sales de cloruro al igual que en las aguas de riego, bajo los tres tipos de uso (VN, C y D). Sin embargo, en los suelos con cultivos es donde los valores altos de NaCl se presentan de manera más generalizada.

Los valores de la RASe están por debajo de los valores de riesgo si se asocian a los valores de CEe, con excepción de algunas muestras en la unidades de producción uno, dos, tres y cinco, donde los valores de CEe resultaron inferiores a 0,6 dS m<sup>-1</sup>. En dichas muestras los problemas de dispersión por sodio no tendrían repercusión dada la textura arenosa de las mismas (Cuadro 8). Los suelos con vegetación nativa son los que muestran los valores menores de RASe exceptuando las unidades de producción nueve y diez.

**CUADRO 7.** Sales presentes en el estrato más salino de cada perfil.

Uso	Sales	Unidades de producción											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
VN	Ca(HCO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	4,2	5,9	3,3	7,9	7,2	8,1	8,8	5,2	8,3	8,1	2,3	2,8
	Mg(HCO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0	0	0	0,8	0	0	0	0	0	0	0	0
	CaSO <sub>4</sub>	2,3	1,4	0,4	10,8	0	1,2	2,9	10,0	6,9	6,7	2,3	4,7
	MgSO <sub>4</sub>	0	0	0,4	0	1,4	0	0	0	0	0	0	0
	NaCl	1,4	3,8	1,5	8,8	3,4	1,9	9,6	17,9	33,2	34,3	8,4	17,9
	MgCl <sub>2</sub>	0	2,2	0,5	12,9	0	0,7	0,2	5,9	18,4	17,9	2,4	8,5
	CaCl <sub>2</sub>	0	0	0	9,3	0	1,2	0	0	0	0	3,9	13,8
C	Ca(HCO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2,7	4,3	2,0	7,1	3,7	8,2	3,7	5,6	9,9	3,1	6,7	3,7
	Mg(HCO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0	0	2,5	0	0	0	0	0	0	1,2	0	0
	CaSO <sub>4</sub>	3,3	5,3	0	1,7	4,4	8,5	4,4	4,5	8,3	0	4,1	2,7
	MgSO <sub>4</sub>	1,2	0	1,3	0,3	0	0	0	0	0	2,5	0	0
	NaCl	18,2	13,5	13,4	5,2	13,5	56,1	13,5	13,1	36,3	14,4	15,9	8,9
	MgCl <sub>2</sub>	4,7	5,6	9,9	2,2	2,6	20,6	2,6	4,7	18,9	0,7	8,2	2,9
	CaCl <sub>2</sub>	0	0	0	0	0	26,2	2,3	0,2	0	0	2,9	1,1
D	Ca(HCO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	3,1	3,0	3,5	7,6	0,8	2,4	6,9	6,8	5,2	6,2	1,4	3,8
	Mg(HCO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,9	0	0,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CaSO <sub>4</sub>	0	1,9	0	6,4	0,3	5,3	4,7	4,8	1,1	7,6	3,7	1,6
	MgSO <sub>4</sub>	0,6	0	0,9	0	1,0	0	0	0	0	0	0	0,4
	NaCl	2,9	8,6	1,5	13,2	5,9	14,5	17,9	14,8	26,9	33,2	17,9	10,9
	MgCl <sub>2</sub>	0	4,4	0	8,1	0	3,9	9,5	8,5	6,8	17,5	4,4	2,6
	CaCl <sub>2</sub>	0	0,5	0	2,2	0	4,5	0,5	1,4	0	1,7	16,1	0

**CUADRO 8.** Relación de adsorción de sodio del suelo (RASE) y relación de adsorción de sodio modificado del agua (RAS<sub>mod</sub>).

Unidad de producción	Profundidad	RASE			RAS <sub>mod</sub>
		VN	C	D	
1	0-20	1,8	7,7	2,5	7,9
	20-40	1,7	8,1	3,4	
	40-60	1,7	7,5	7,6	
2	0-20	2,4	4,9	3,5	6,9
	20-40	1,6	5,2	5,7	
	40-60	1,7	5,1	6,1	

./... continúa CUADRO 8

../... continuación CUADRO 8.

Unidad de producción	Profundidad	RAS <sub>e</sub>			RAS <sub>mod</sub>
		VN	C	D	
3	0-20	0,9	4,8	1,6	12,2
	20-40	0,8	4,4	4,6	
	40-60	0,8	3,5	1,9	
4	0-20	1,9	1,9	3,6	6,1
	20-40	0,9	2,0	3,4	
	40-60	0,7	2,0	3,4	
5	0-20	2,8	5,1	2,1	6,1
	20-40	3,0	5,4	3,6	
	40-60	2,4	5,9	5,7	
6	0-20	1,2	6,3	6,6	8,8
	20-40	0,9	4,2	6,7	
	40-60	0,8	9,9	5,1	
7	0-20	3,2	6,3	6,1	7,7
	20-40	3,7	4,4	5,5	
	40-60	4,9	5,1	4,2	
8	0-20	4,5	5,2	5,8	7,3
	20-40	4,1	4,7	6,5	
	40-60	5,5	5,9	4,5	
9	0-20	2,9	7,4	10,3	7,1
	20-40	6,1	8,4	10,1	
	40-60	8,1	9,1	4,1	
10	0-20	2,9	6,2	8,2	5,7
	20-40	6,1	5,9	7,9	
	40-60	8,1	7,4	7,9	
11	0-20	3,5	6,4	5,0	6,1
	20-40	1,6	4,8	5,5	
	40-60	1,9	3,7	4,7	
12	0-20	4,6	3,9	5,3	5,3
	20-40	4,4	2,9	1,9	
	40-60	4,1	2,0	2,0	

1= Santa Bárbara; 2= San Eugenio; 3= Terranova; 4= Coop. Cuabana; 5= El Yesal; 6= El Sueño de mi padre; 7= La 5 p.m.; 8= La Encantada; 9= La Productiva; 10= El Labrador; 11= Angola; 12= La Providencia.

VN: Suelo bajo vegetación natural; C: Suelo bajo cultivo; D: Suelo en descanso

La expectativa de que el valor de la RAS<sub>e</sub> en el estrato superior de los suelos bajo cultivo fuera similar a la RAS<sub>mod</sub> no se cumplió, posiblemente por la baja retención de agua de la mayoría de las muestras de suelo, el uso de fuentes de calcio en los programas de fertilización o el posible uso de otras fuentes de agua distintas a las evaluadas.

### CONCLUSIONES

- Las aguas evaluadas presentan poco riesgo de sodificación de los suelos debido fundamentalmente a la ausencia de sales de sodio de hidrólisis alcalina. Los índices de sodicidad encontrados en los suelos coinciden con lo señalado.
- Aún cuando la mayoría de las aguas de riego evaluadas califican con restricciones fuertes por salinidad, no todos los suelos bajo cultivo presentan problemas severos. Sin embargo, en la mayoría de ellos la salinidad iguala o supera los 2 dS m<sup>-1</sup>. Uno de los factores que puede estar enmascarando el problema de afectación es la retención excesiva de agua en las pastas de suelos arenosos que disuelve aun más las pocas sales acumuladas.
- El uso de riego localizado de alta frecuencia está contribuyendo a sobrellevar la agricultura en la zona con aguas salinas, creándose un medio menos salino para las plantas, pero con las aguas muy salinas esta técnica no debe rendir los mismos beneficios.

### BIBLIOGRAFÍA

- Abrol, I., J. Yadav and F. Massoud. 1988. Salt-affected soils and their management. FAO. Soil Bulletin 39. Rome, Italy.
- Ayers, R. and D. Westcot. 1985. Water quality for agriculture. FAO. Irrigation and Drainage Paper 29. Rev. 1. Rome, Italy.
- Chhabra, R. 1996. Soil salinity and water quality. A. A. Balbema Publishers. Broofield, USA.
- Pla, I. 1969. Metodología de laboratorio recomendada para el diagnóstico de salinidad y alcalinidad de suelo, aguas y plantas. Instituto de Edafología. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Ragab, A., F. Hellal and M. Abd El-Hady. 2008. Water salinity impacts on some soil properties and nutrients uptake by wheat plants in sandy and calcareous soil. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 2:225-233.
- Rhoades, J., A. Kandiah and A. Mashali. 1992. The use of saline waters for crop production. FAO. Irrigation and Drainage Paper 48. Rome, Italy.
- Schleiff, U. 2006. Research for crop salt tolerance under brackish irrigation. In: Proceedings of the International Conference Soil and Desertification – Integrated Research for the Sustainable Management of Soil in Drylands. 5-6 May. Hamburg, Germany. 8 p.
- Suárez, D. 1981. Relation between pH<sub>c</sub> and sodium adsorption ratio (SAR) and an alternative method of estimating SAR of soil and drainage waters. Soil Sci. Soc. Am. J. 45:469-475.
- United States Salinity Laboratory Staff (USSLS). 1954. Diagnosis and Improvement of saline and alkali soils. Agriculture Handbook 60. Washington D.C., USA.
- Van der Zee, S., S. Shah, C. Van Uffelem, P. Raats and N. Dal Ferro. 2010. Soil sodicity as result of periodical drought. Agricultural Water Management 97:41-49.
- Villafañe, R. 2011. Sosalriego: Un procedimiento para diagnosticar los riesgos de sodificación y salinización del suelo con el agua de riego. Bioagro 23:57-64.
- Villafañe, R. e I. Pla. 1994. Efecto del riego y la lluvia sobre el desplazamiento vertical de sales en un suelo arcilloso de Venezuela. Agronomía Trop. 44:707-729.



## EFFECTO DEL DÉFICIT HÍDRICO SOBRE EL CICLO PRODUCTIVO DE LA PALMA ACEITERA EN EL ESTADO MONAGAS, VENEZUELA

### EFFECT OF WATER DEFICIT ON THE PRODUCTIVE CYCLE OF OIL PALM IN MONAGAS STATE, VENEZUELA

Renny Barrios Maestre\*, DelValle Mark\*, Editor Rivas\*, José Fariñas\*, José Salazar\*\* y Gladys Rodríguez\*

\*Investigadores. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA Monagas). Maturín, estado Monagas

\*\*Ingeniero Agrónomo. Asociación Venezolana de Cultivadores de Palma Aceitera. Asentamiento Campesino "El Zamuro".  
Correo electrónico: rbarrios@inia.gov.ve.

#### RESUMEN

La distribución unimodal de la precipitación en la región palmera del estado Monagas genera períodos de déficit hídrico y períodos de excesos de humedad que se reflejan en la producción de la palma aceitera, *Elaeis guineensis* Jacq. Con el fin de determinar el efecto del déficit hídrico sobre el ciclo productivo de la también llamada palma africana, se estudió la correlación entre la disponibilidad hídrica y la producción del cultivo. El trabajo se realizó en la zona palmera Vuelta Larga-La Hormiga, municipio Maturín, estado Monagas, con un clima Bosque Húmedo Tropical, el paisaje corresponde a terrazas aluviales del río Guarapiche y los suelos predominantes son ultisoles y entisoles. Se estimaron balances hídricos a intervalos de 5 d a través de la metodología de Thornthwaite y Mather (1955). Se utilizaron registros de la estación climatológica del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) ubicada en San Agustín de La Pica (latitud 09°46'34,2'' N; longitud 63°03'21,4'' W; altitud 24 m.s.n.m.) y registros de producción de racimos de palma aceitera arrimada a la planta extractora por 18 fincas de la zona durante el período 2000-2004. Esta región palmera presentó un déficit hídrico de 450 mm anuales, concentrados entre enero y mayo. Se identificaron tres períodos críticos en los cuales el déficit hídrico influye negativamente sobre la producción que corresponden a las fases fenológicas de llenado de frutos, estado de flecha central y diferenciación sexual de inflorescencias. La disminución de la producción fue potenciada por la superposición de los efectos del déficit hídrico sobre las etapas críticas identificadas.

**Palabras Clave:** *Elaeis guineensis* Jacq.; déficit hídrico; fenología.

#### SUMMARY

The unimodal distribution of rainfall in the producing region of oil palm at Monagas State generates water deficit periods and moisture excess periods, which are reflected in the production of oil palm, *Elaeis guineensis* Jacq. To determine the effect of water stress on the productive cycle of oil palm correlation between water availability and production of oil palm was studied. The study was carried out on oil producing area Vuelta Larga-La Hormiga. The climate is tropical humid forest, landscape corresponds to Guarapiche River alluvial terraces and Ultisols and Entisols are predominant soils. Water balances were estimated at intervals of 5 days by using the Thornthwaite and Mather method. Weather data were obtained from San Agustín de la Pica weather station (latitude 09°46'34.2'' N, longitude 63°03'21.4'' W; altitude 24 m above mean sea level). Records of production were obtained at the local palm oil extraction plant from yield of oil palm bunches from 18 farms during the period 2000-2004. Oil palm area presented a water deficit of 450 mm per year, concentrated between January and May. Three critical periods in which water deficit had a negative impact on production were identified, corresponding to the fruit filling stage, state of the central arrow and sexual differentiation of inflorescences. The decrease in production was worsened by the superposition of the effects of water stress on the critical stages identified.

**Key Words:** *Elaeis guineensis* Jacq., water deficit, phenology.

## INTRODUCCIÓN

En Venezuela la dependencia de oleaginosas provenientes del exterior, se ubica actualmente cerca de 92% del consumo nacional, representando una debilidad desde el punto de vista estratégico debido a su impacto sobre la seguridad y soberanía alimentaria. La palma aceitera es reconocida como el cultivo oleaginoso que produce mayor cantidad de aceite por unidad de superficie en todo el mundo.

Acupalma (2009) reporta que la palma aceitera aporta el 90% de la producción nacional de aceites y grasas, con una producción de 88500 TM/año y un rendimiento promedio nacional de 12 ton ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>. En el estado Monagas el rendimiento promedio apenas alcanza a 5 t ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, lo cual califica a la región como una zona marginal para el desarrollo del cultivo debido a limitaciones edafoclimáticas.

El suministro de agua es el factor más importante para el desarrollo y productividad de la palma aceitera, requiriendo aproximadamente 150 mm de precipitación mensual (Hartley, 1983).

La distribución unimodal de las precipitaciones que caracteriza a la región palmera del estado Monagas, concentrada entre junio y noviembre, origina excesos de agua en algunas épocas del año y déficit hídrico marcado en otros períodos. Esto trae como consecuencia fluctuaciones de la producción durante el año, generando picos de producción en períodos cortos de tiempo, a su vez, origina problemas de recepción y procesamiento de fruta en la planta extractora (Barrios y Florentino, 2001).

Estudios de Turner (1977) evidencian que la cantidad y distribución de la lluvia son parámetros importantes en los sistemas de estimación de la cosecha de palma aceitera. Se ha demostrado que la precipitación afecta el rendimiento de la palma aceitera a corto plazo (Chow, 1992; Dufour *et al.*, 1988), estableciendo relaciones estadísticamente significativas entre la producción en períodos posteriores, el impacto de la sequía en las etapas de crecimiento y el desarrollo fisiológicamente sensibles de la palma (Henson y Mohd Tayeb, 2004a).

Asimismo, Siregar *et al.* (1998) encontraron una correlación positiva entre el rendimiento de racimos y los períodos anteriores de sequía, lo cual explicaría el 75% de las variaciones registradas en la producción de la palma aceitera en plantaciones comerciales del sur de Sumatra (suroeste asiático) donde tradicionalmente existe un período seco.

También, Sterling *et al.* (1997) señalan que la precipitación tiene efectos indirectos sobre el rendimiento, porque afecta la polinización a través de su influencia sobre la liberación y la viabilidad del polen. Igualmente, Henson y Mohd Tayeb (2004b) determinaron efectos sobre la tasa de emisión foliar, las etapas de desarrollo de la inflorescencia, el aborto de la inflorescencia, la eficiencia de la polinización, el peso del racimo y la tasa de desarrollo y la maduración del racimo. De igual forma, Foster y Chang (1989) establecieron que las relaciones de la precipitación con la producción de hojas, el número de racimos, la diferenciación sexual y el aborto de flores, explicarían hasta el 77,4% de las fluctuaciones mensuales de rendimiento en regiones palmeras de Malasia.

Diversos estudios indican que la práctica de riego, aunada a la corrección de las limitaciones físicas y químicas de los suelos, constituye una alternativa para lograr la estabilización de las fluctuaciones de la producción y lograr un incremento en la productividad (Prioux *et al.*, 1992; Barrios *et al.*, 2003; Barrios y Florentino, 2008).

Evidentemente, la fenología de la palma aceitera está asociada a la disponibilidad hídrica, la cual está claramente definida en la región tropical con un período húmedo y un período seco.

En tal sentido, el presente trabajo plantea como objetivo, determinar el efecto de déficit hídrico sobre la producción de la palma aceitera en las zonas productoras del estado Monagas, a fin de tomar decisiones en la aplicación de riego complementario y de manejo de la planta extractora.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en una zona palmera Vuelta Larga-La Hormiga, ubicada en el municipio Maturín del estado Monagas, aproximadamente a 20 km al este de la ciudad de Maturín y al sur del río Guarapiche, geográficamente, se sitúa entre los 63° 00'00" y 63° 02'56" W, y 9° 51'3" y 9° 54'36" N; con una altura entre 10 y 18 m.s.n.m. El clima está clasificado como Bosque Húmedo Tropical, con temperatura media anual de 27,3 °C, precipitación de 1 291 mm como promedio anual y humedad relativa superior al 80% durante todo el año (MARNR, 1997).

Las plantaciones comerciales de la zona están ubicadas dentro del paisaje de terrazas aluviales del río Guarapiche con predominio de suelos evolucionados dominados por Ultisoles en las terrazas más altas y de suelos del orden Entisol y Vertisol en las zonas más cercanas al curso

de agua, con niveles freáticos superiores a 2 m, según estudios de Pérez (1987).

Se recopilaron registros de la producción arrimada a la planta extractora de aceite “Palmonagas S. A.” de 18 fincas ubicadas en el eje palmicultor Vuelta Larga-La Hormiga durante el período 2000-2004, las cuales no disponían de sistemas de riego. Dichas parcelas estaban sembradas entre los años 1987 y 1989 con el híbrido Tenera, proveniente del cruce “Deli x Avros”.

Los balances hídricos se estimaron mediante el método de Thornthwaite y Mather (1955). Este método permite monitorear el almacenamiento de agua en el suelo, reflejando el balance entre las entradas y salidas de un volumen de control. Para esto se consideró a la lluvia (P) como la única entrada, a la ETP como la salida debida a la demanda atmosférica y a la capacidad de agua disponible (CAD) como la capacidad de almacenamiento de agua en el suelo. Mediante este método es posible estimar la evapotranspiración real (ETR), el déficit (DEF), el exceso (EXC) y el almacenamiento de agua en el suelo (Pereira *et al.*, 1997).

La variación del almacenamiento se estimó a través de la alteración (ALT) del contenido de agua en el suelo, mediante la ecuación siguiente:  $\pm ALT = P - ETR - EXC$  (Lozada y Sentelhas, 2003). Adicionalmente, se incluyó una columna definida como “Disponibilidad hídrica”, donde se colocó el déficit con valores negativos y el exceso con valores positivos, con fines de construcción de las figuras.

Los balances hídricos se calcularon en intervalos de 5 d para el mismo período de producción considerado, utilizando datos de precipitación y evaporación de tina provenientes de la estación climatológica del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), ubicada en San Agustín de La Pica (dentro del eje palmicultor estudiado), una capacidad de almacenamiento del suelo de 120 mm, considerando una profundidad radical efectiva de 1,0 m y un Kc de 0,9 para palmas adultas.

Para estudiar el efecto del déficit hídrico sobre el ciclo productivo de la palma aceitera se tomó como base los estudios fenológicos de la etapa reproductiva realizados por Sanjinés (1987), donde se establece la cronología del desarrollo del fruto desde la iniciación de la yema floral hasta el momento de la cosecha.

Posteriormente, se formaron correlaciones entre la producción mensual promedio de la palma aceitera en las 18 fincas seleccionadas y el déficit hídrico determinado para el eje palmicultor Vuelta Larga-La Hormiga.

Para establecer el efecto del estrés hídrico sobre la producción en períodos posteriores, se procedió a desfazar la disponibilidad hídrica contra la producción en forma mensual, es decir, se correlacionó el déficit hídrico del mes uno contra la producción en el mes dos, el déficit hídrico del mes uno contra la producción del mes tres, y así sucesivamente hasta alcanzar un período de desfase de 48 meses, obteniéndose en cada caso el coeficiente de correlación. Seguidamente, se seleccionaron los coeficientes significativos y se contrastaron con la etapa reproductiva sobre la cual influye según estudios fenológicos de Sanjinés (1987).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El balance hídrico mostró dos etapas claramente definidas para la región Vuelta Larga-La Hormiga: un período de déficit hídrico entre enero y mayo que alcanza un valor promedio de 454 mm y un período de exceso de humedad con un promedio de 371 mm anuales y se concentra entre junio y septiembre (Figura 1).

Trabajos de Díaz y Barrios (2002) destacan el efecto de suelo y clima sobre la reducción de los rendimientos de la palma aceitera en tres regiones palmeras de Venezuela, donde se tomó como referencia la zona sur del Lago de Maracaibo, con suelos fértiles y déficit hídrico bajo, y se comparó con las zonas palmeras del estado Yaracuy (con suelos fértiles y déficit hídrico medio) y del estado Monagas (con suelos pobres y déficit hídrico alto), obteniéndose reducciones en 25 y 32%, respectivamente.

Por su parte, Sun *et al.* (2011) señalan que el crecimiento, distribución de la biomasa, concentración de nutrientes y las propiedades morfológicas y fisiológicas del aceite de palma se vieron afectados por la disponibilidad de agua y nutrientes, pero pareciera ser más afectados por el estrés hídrico. La fertilización bajo condiciones de buena humedad disminuyó el estrés nutricional, mientras que la fertilización en condiciones de escasez de agua agravó el estrés por sequía, mediante la disolución del fertilizante.

A nivel local, las limitantes edafoclimáticas de la zona se reflejan en el crecimiento, desarrollo y producción de la palma aceitera. Legros *et al.* (2009b) y Henson (2006), afirman que el crecimiento y desarrollo vegetativo de la palma aceitera constituye el sumidero prioritario e invariable debido a la baja plasticidad arquitectónica de esta especie, mientras que la producción de fruta es más plástica y capaz de adaptarse a los recursos disponibles.

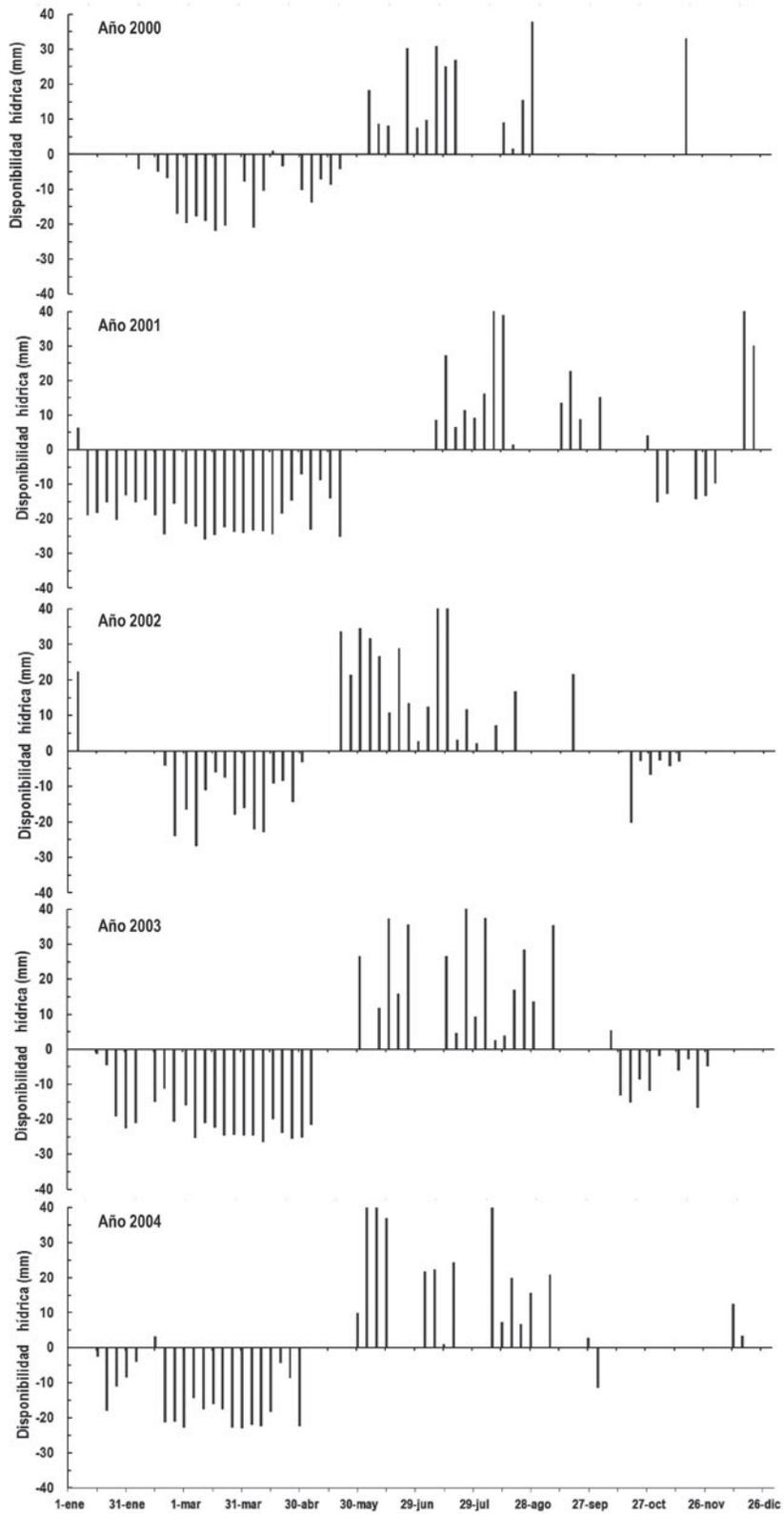


FIGURA 1. Balances hídricos de la región palmera Vuelta Larga–La Hormiga durante el período 2000-2004.

La Figura 2 muestra las fluctuaciones de la producción de la palma aceitera en la región Vuelta Larga–La Hormiga durante el período 2000-2004 asociadas al efecto del déficit hídrico, donde se observan tendencias a acumular picos de producción entre los meses de mayo y julio, y épocas de baja producción durante los meses de enero y marzo.

Evidentemente, los cambios en la producción son el reflejo de los eventos que ocurrieron con anterioridad y que se manifiestan en diferentes etapas. La palma aceitera se caracteriza por largos períodos de retraso para reflejar los ajustes fenológicos que realiza la planta en respuesta a cambios en los factores ambientales (Legros *et al.*, 2009a).

Las investigaciones no fueron determinantes para establecer las causas de las fluctuaciones de la producción de la palma aceitera. Los principales componentes de la producción son el número y el peso de los racimos cosechados por mes (Corley y Tinker, 2003), los cuales están determinados por la proporción de sexos de inflorescencias, fracción de inflorescencias abortados, aborto de racimos y relación peso mesocarpio: peso total del racimo.

Teniendo en cuenta que la duración del desarrollo de inflorescencias femeninas alcanza aproximadamente 4 años, y el gran número de inflorescencias en diferentes etapas de desarrollo presentes en una planta en un momento dado, se hizo difícil determinar los efectos de la variabilidad climática sobre componentes de rendimiento (Corley, 1977).

El análisis estadístico de la producción y el déficit hídrico de la región Vuelta Larga–La Hormiga estableció una correlación significativa para tres épocas críticas en las cuales el déficit hídrico influye negativamente sobre la producción (Cuadro): diferenciación sexual de inflorescencias, estado de flecha central y llenado de racimos.

### Diferenciación sexual de inflorescencias

En el eje palmero Vuelta Larga–La Hormiga, ocurre entre los 26 y 27 meses antes de cosecha, donde el estrés hídrico origina la tendencia a producir mayor proporción de flores masculinas (androicas), con lo cual existe menor número de flores que den origen a la formación de racimos (Peralta, 1988).

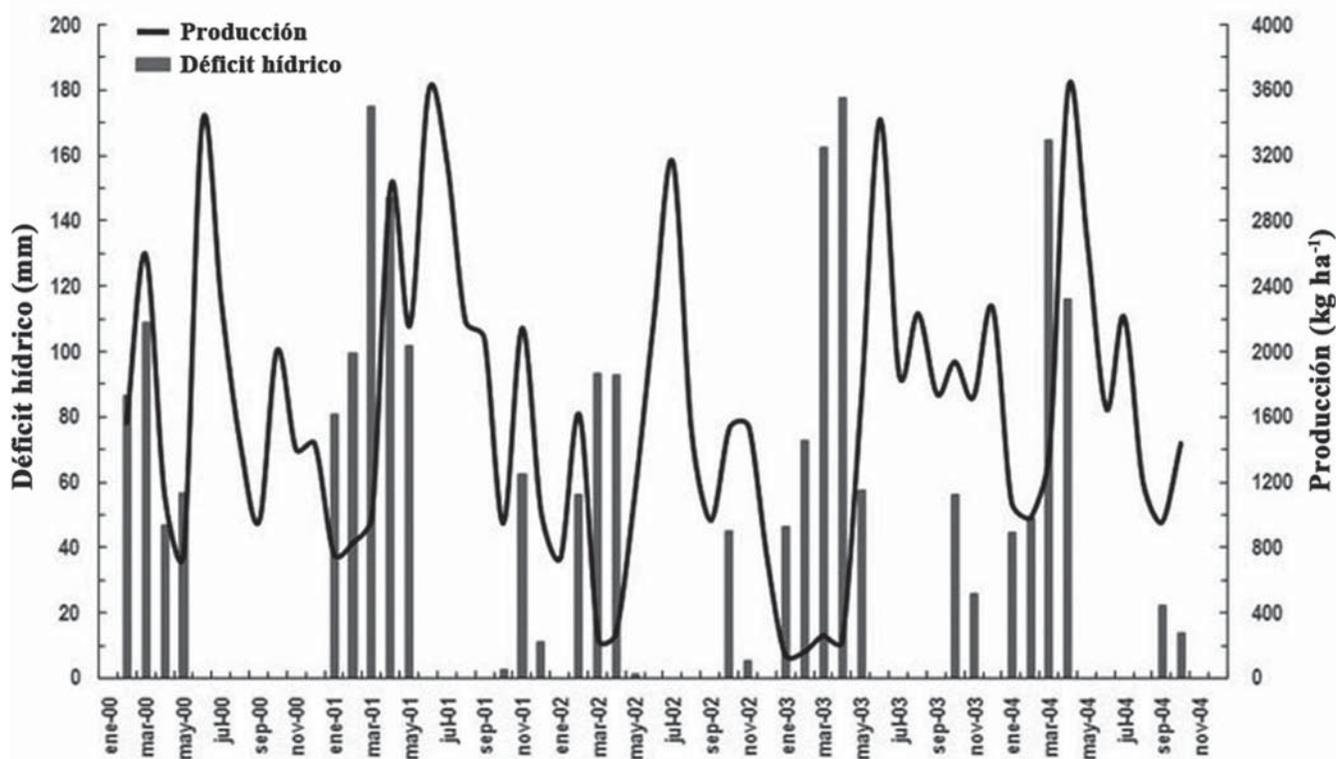


FIGURA 2. Efecto del déficit hídrico sobre la producción de la palma aceitera en la región Vuelta Larga-La Hormiga durante el período 2000-2004.

**CUADRO.** Análisis de correlación entre la producción de la palma aceitera y la disponibilidad hídrica en el estado Monagas.

Meses antes de la Cosecha (mac)	Coefficiente de Correlación	F calculada	Etapa fenológica asociada (Según Sanjinés, 1987)
27	0,46	3,19**	Diferenciación sexual de inflorescencias
26	0,36	2,59*	
15	0,57	3,87**	Estado de flecha central
14	0,48	3,19**	
3	0,49	3,19**	Llenado de racimos
2	0,38	2,35*	

\*Significativo ( $P \geq 0,05$ ); \*\*Altamente significativo ( $P \geq 0,01$ ).

Resultados similares fueron reportados por Turner y Gillbanks (2003) en estudios conducidos en el sur de Sumatra, con clima seco, donde la falta de humedad afectó el rendimiento alrededor de 21 a 26 meses más tarde, con una reducción en el rendimiento en el orden de 10 a 40%. Henson *et al.* (2007) señalan que la principal razón es la influencia sobre etapas específicas de crecimiento y desarrollo de la inflorescencia, básicamente, la etapa de diferenciación sexual de la inflorescencia y la susceptibilidad al aborto de ésta.

Por su parte, Legros *et al.* (2009a) señalan que la frecuencia de aparición de inflorescencias femeninas fértiles se vió afectada por la sequía con un retraso estimado de 29 meses antes de la cosecha del racimo.

#### Estado de flecha central

Ocurre entre los 14 y 15 meses antes de la cosecha, y bajo condiciones de estrés hídrico se atrasa el proceso de apertura de las hojas y puede conducir al aborto de la inflorescencia asociada (Sanjinés, 1987; Barrios *et al.* 2000, 2003). Asimismo, Henson *et al.* (2004a) señalan que la anthesis ocurre normalmente alrededor de la hoja 20, aproximadamente nueve meses después que ésta se expande totalmente, y en función de las tasas de emisión foliar observadas, cualquier fuente de estrés se reflejará sobre la producción entre 9 y 15 meses después.

#### Llenado de frutos

Se produce entre los 2 y 3 meses antes de la cosecha. El estrés hídrico conduce a la paralización del proceso de llenado del fruto, originando racimos de menor peso y en casos extremos

el aborto del racimo (Sanjinés, 1987; Barrios *et al.* 2000, 2003). En diversas regiones palmeras se ha demostrado que, en condiciones de estrés hídrico, los estomas se cierran durante la estación seca y permaneciendo así durante varias semanas, con el consecuente incremento de la temperatura y la reducción de la transpiración (Villalobos *et al.*, 1992; Henson, 2005). Como resultado, la fotosíntesis se reduce en gran medida o cesa por completo, con lo cual se afecta la síntesis y translocación de aceite, generando una reducción del rendimiento a largo plazo (Corley y Tinker, 2003; Villalobos *et al.*, 1992; Palat *et al.*, 2000, Henson, 2005).

En términos generales, los resultados de esta investigación concuerdan con los reportes de Turner y Gillbanks (2003), quienes destacan que hay tres grandes períodos donde la palma aceitera es particularmente sensible al estrés hídrico: 33 a 30, 24 a 19 y de 13 a 7 meses antes de la cosecha. Estas tendencias son más claras en áreas como África occidental, que otras como Malasia y Sumatra del Norte, donde los estudios generalmente tienden a dar resultados menos evidentes debido a la aparición de déficits de humedad relativamente infrecuentes y leves.

Las diferencias observadas con respecto a los períodos en los cuales se afecta el rendimiento obedecen a las condiciones locales particulares del estado Monagas. En tal sentido, Henson y Mohd Tayeb (2004b) afirman que el momento de los impactos sobre el número de racimos es diferente en cada zona y depende de la proporción de flores femeninas formadas y del aborto de las mismas, mientras que los efectos sobre el aborto y el peso promedio del racimo ocurren en tiempos similares antes de la cosecha en diferentes regiones productoras de palma aceitera.

Es de hacer notar que en las relaciones establecidas entre el déficit hídrico y la producción del eje palmero Vuelta Larga–La Hormiga, ocurre una superposición de efectos, lo cual potencia la reducción de la producción.

En la Figura 2, se puede observar como la disminución de la producción que ocurrió entre abril y diciembre de 2003 fue una consecuencia del déficit hídrico ocurrido entre enero y marzo de 2001 que afectó la diferenciación sexual de inflorescencias, pero fue potenciado por el déficit hídrico que ocurrió entre noviembre 2001 y abril 2002, que produjo aborto de inflorescencias.

Barrios *et al.* (2003) y Barrios y Florentino (2008) señalan que la respuesta de la planta también está afectada por las propiedades del suelo y desarrollo de la raíz de la palma. Para suelos con baja capacidad de retención de agua o con una profundidad de enraizamiento superficial, debido a problemas físico-químicos de los suelos, la susceptibilidad a condiciones de estrés será mayor. Como estrategia de atenuación de estos efectos, se hace necesaria la corrección de las limitantes para garantizar la nutrición hídrica y mineral adecuada para el crecimiento, desarrollo y producción de la palma aceitera.

### CONCLUSIONES

- La región palmera Vuelta Larga–La Hormiga presentó un déficit hídrico de 450 mm anuales, concentrados entre enero y mayo, que afectó el ciclo productivo de la palma aceitera.
- Se identificaron tres épocas críticas en las cuales el déficit hídrico influye negativamente sobre la producción, que corresponden a etapas de formación del fruto claramente definidas: llenado de frutos, estado de flecha central y diferenciación sexual de inflorescencias.
- La práctica de riego representa una alternativa para atenuar los efectos adversos del déficit hídrico, dirigido a estabilizar las fluctuaciones de la producción, lograr un incremento en la productividad y planificar de manera más confiable el funcionamiento de la planta extractora.

### BIBLIOGRAFÍA

ACUPALMA (Asociación Venezolana de Cultivadores de Palma Aceitera). 2009. Boletín Estadístico Año 2009. Acupalma. Caracas 62 p.

Barrios R. y A. Florentino. 2001. Evaluación del patrón de humedecimiento de los suelos subirrigados cultivados con palma aceitera. *Agronomía Trop.* 51(3):371-386.

Barrios, R. y A. Florentino. 2008. Propiedades hidráulicas de dos suelos subirrigados cultivados con palma aceitera en el estado Monagas, Venezuela. *Agronomía Trop.* 58(2):155-162.

Barrios, R., A. Arteaga, A. Florentino y G. Amaya. 2003. Evaluación de sistemas de subirrigación y de aspersión en suelos cultivados con palma aceitera. *UDO Agrícola* 3(1):39-46.

Barrios, R., D. Molina, F. Barreto y J. Bastardo. 2000. Sintomatología asociada a déficit hídrico en plantaciones comerciales de palma aceitera en el estado Monagas. *Fonaiap Divulga* 68:27-29.

Chow, C. S. 1992. The effects of season, rainfall and cycle on oil palm yield in Malaysia. *Elaeis* 4:32-43.

Corley H. V. and Tinker P. B. 2003. *The Oil Palm*. Fourth edition. Blackwell Science, Oxford 562 pp.

Dufour, O., J. L. Frere, J. P. Caliman and P. Hornus. 1988. Description of a simplified method of production forecasting in oil palm plantations based on climatology. *Proc. of the 1987 International Oil Palm/Palm Oil Conferences. Conference I: Agriculture. PORIM, Bangi* 36-45 pp.

Foster, H. L. and K. C. Chang. 1989. Factors limiting maximum oil palm yields in Peninsular Malaysia. *Oleagineux* 44:1-7.

Hartley, C. W. 1983. *La palma de aceite*. México. Compañía Editorial Continental 953 p.

Henson, I. E. 2005. Modelling seasonal variation in oil palm bunch production using a spreadsheet programme. *Journal of Oil Palm Research* 17:27-40.

Henson, I. E. and D. Mohd Tayeb. 2004a. Seasonal variation in yield and developmental processes in an oil palm density trial on a peat soil. I. Yield and bunch number components. *J. Oil Palm Research* 16:88-105.

Henson I. E. and Mohd Tayeb D. 2004b. Seasonal variation in yield and developmental processes in an oil palm density trial on a peat soil. II. Bunch weight components. *J. Oil Palm Research* 16:106-120.

- Henson, I. E., Z. Yahya, M. Md Noor, M. Harun and A. Tarmizi. 2007. Predicting soil water status, evapotranspiration, growth and yield of young oil palm in a seasonally dry region of Malaysia. *Journal of Oil Palm Research* 19:398-415.
- Lozada, B. y P. Sentelhas. 2003. Relaciones entre deficiencias y excedentes hídricos estimados a partir de los balances hídricos normal y secuencial. *Bioagro* 15(3):209-215.
- MARNR. 1997. Atlas del Estado Monagas. Gobernación del estado Monagas 99 p.
- Ochs, R. 1977. Les contraintes écologiques du développement des oleagineux perennes (palmier a huile et cocotier) en Afrique occidentale et centrale. Choix de la plante en fonction du climat et du sol. *Oleagineux* 32:461-468.
- Palat, T., B. G. Smith and H. V. Corley. 2000. Irrigation of oil palm in southern Thailand. Proc. Of the International Planters Conference. May 2000. Incorporated Society of Planters, Kuala Lumpur 303-315 pp.
- Peralta, F. 1988. Ecología de la palma aceitera. En Curso sobre el cultivo de palma aceitera. Yaracuy, Venezuela. INAGRO, FONCOPAL, ASD. Parte III. 1-18 pp.
- Pereira, A. P., N. A. Vila Nova e G. Ch. Sedyama. 1997. Evapo transpiração. Fealq, Piracicaba 183 p.
- Pérez, R. 1987. Estudio agrológico semidetallado del Asentamiento Campesino "El Zamuro". Palmonagas, C. A. Mimeografiado 459 p.
- Prioux, G., J. Jacquemard H. De Franqueville and J. Caliman. 1992. Oil palm irrigation. Inicial results obtained by PHCI (Ivory Coast). *Oleagineux* 47(8-9):497-509.
- Sanjinés, A. 1987. Efectos del riego y la sequía en el crecimiento, floración y producción de la palma africana. *Palmas* 8(1):59-62.
- Siregar H. H., Darnosarkoro W. and Poeloengan Z. 1998. Oil palm yield simulation model using drought characteristics. **In:** Proc. Int. Conf. on Developments in the Oil Palm Plantation Industry for the 21st Century (Jatmika, A. *et al.*, eds), Bali, 1998. International Society of Oil Palm Agronomists, International Society for Oil Palm Breeders, and Indonesian Oil Palm Research Institute.
- Sterling, F., C. Montoya y A. Alvarado. 1997. Efecto del clima y la edad del cultivo sobre la varianza de algunos componentes del racimo de la palma aceitera en Coto, Costa Rica. ASD Oil Palm Pap. 16:19-30.
- Thornthwaite, C. W. and J. R. Mather. 1955. The water balance: publications in climatology. New Jersey: Drexel Institute of Technology 104 p.
- Turner, P. D. 1977. The effects of drought on oil palm yields in South-east Asia and the south Pacific region. **In:** International Developments in Oil Palm (Earp, D.A. and Newall, W., eds.). Kuala Lumpur: Incorporated Society of Planters 673-694 pp.
- Turner, P. D. and R. A. Gillbanks. 2003. Oil Palm Cultivation and Management. Second edition. Kuala Lumpur: Incorporated Society of Planters 915 p.
- Villalobos, E., C. H. Umaña y C. Chinchilla. 1992. Estado de hidratación de la palma aceitera en respuesta a la sequía en Costa Rica. *Oleagineux* 47(5):217-223.

# AGRONOMÍA TROPICAL

## Revista del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Venezuela Instrucciones para los Autores

**Agronomía Tropical** publica trabajos originales producto de la investigación en el área de la agronomía. Se reconocen por trabajos originales aquellos que son producto de la investigación o experimentación, que tienen como objetivo concreto desarrollar nuevos conceptos o tecnologías y adaptar las existentes a las condiciones locales.

El envío de trabajos a **Agronomía Tropical** implica que no han sido presentados para su publicación en otra revista.

Los trabajos cortos, que describen técnicas experimentales, equipos, fenómenos naturales, o especies nuevas, serán publicados en la revista como **notas técnicas**. También se aceptan reseñas de libros recientemente publicados.

### Manuscritos

Se requieren un original y tres copias legibles, transcritas a doble espacio en papel blanco tamaño carta (28,0 x 21,5 cm), utilizando una sola cara con márgenes de 2 cm en la parte superior y 3 cm en los demás lados. Las páginas deben ser numeradas consecutivamente. La versión final del trabajo, en la cual se han acogido las observaciones de los revisores, deberá remitirse tanto en un original transcrito, como archivado en un CD archivado en el programa MS Word, Open Office Writer.

Los manuscritos también pueden enviarse vía correo electrónico a las siguientes direcciones de la revista: [agrotrop@inia.gob.ve](mailto:agrotrop@inia.gob.ve) y [agrotropi@yahoo.com](mailto:agrotropi@yahoo.com).

La secuencia en la presentación de un trabajo es como sigue: título en español e inglés, resumen y summary, autor(es), palabras clave, introducción la cual debe incluir la revisión de literatura, materiales y métodos, resultados y discusión, conclusiones (si hubiere), agradecimiento (si hubiere) y bibliografía.

Los títulos de cada una de las partes del trabajo deben insertarse en el texto en letras mayúsculas y en el centro de la página.

La extensión del trabajo no debe exceder de 25 páginas a doble espacio, incluyendo en ellos cuadros, figuras y

referencias. Junto al manuscrito es necesario anexar una carta de Fe, donde se declare que el trabajo no ha sido presentado en ningún otro medio.

Una vez aceptado el manuscrito se le enviará la comunicación oficial de aprobación con la ubicación relativa donde será incluido en la revista **Agronomía Tropical**.

**Título.** Escrito en letras mayúsculas, debe ser claro y conciso, procurando no excederse de 20 palabras. Debe identificar y describir concretamente el contenido del trabajo, sin abreviaturas. Sólo deben incluirse los nombres comunes de plantas, insectos, etc., cuando se requiere, dejando como palabra clave el nombre científico de los mismos.

**Autor(es).** Primer nombre completo, inicial del segundo y apellidos completos. Después de los nombres se usarán asteriscos (\*) para identificar al pie del título el cargo, la institución, dirección postal donde trabajan y correo electrónico. Debe usar el nombre completo de la institución con la abreviatura o sigla entre paréntesis. Si es necesario, puede indicar la institución que financió el trabajo, o si es parte de una tesis de grado.

**Resumen.** Debe tener un máximo de 250 palabras (150 para las Notas), en un sólo párrafo. Específicamente debe exponer cuál es el objetivo del trabajo, cómo se realizó, los resultados cuantitativos más relevantes, porqué son relevantes y la conclusión. Los entes biológicos y los suelos deben ser identificados por sus nombres científicos cuando son mencionados por primera vez en el resumen y en el summary la primera vez que aparezcan en el cuerpo del trabajo, tanto en castellano como inglés, y no deben repetirse en el cuerpo del artículo.

**Palabras Clave.** Son aquellas que permiten identificar el tópico que se discute en el texto y que faciliten la elaboración del índice de materias, tratando de no repetir las que se usen en el título. Debe incluir los nombres científicos de los entes biológicos.

**Introducción.** Debe estar formada por una breve referencia de los antecedentes que motivaron a la realización del trabajo; igualmente, puede incluirse la revisión

de literatura con las investigaciones más recientes que aporten ideas fundamentales para la realización del trabajo. También incluirá el objetivo del mismo. Para las referencias bibliográficas se usará el sistema de apellidos del primer autor y el año de publicación.

**Materiales y Métodos.** La presentación debe ser clara y concreta, siguiendo un ordenamiento lógico de las técnicas empleadas en la investigación y los materiales utilizados. Los procedimientos analíticos y estadísticos usados deberán ser descritos claramente o citados como referencias bibliográficas.

**Resultados y Discusión.** Esta sección debe satisfacer los objetivos que se señalaron en la introducción, manejando la información cuantitativa a través de cuadros o figuras a fin de transmitir en forma clara el significado de los resultados obtenidos. Es necesario el uso de la estadística para verificar la validez de los resultados, cuando así se requiera. La discusión de los datos deberá hacerse basada en los soportes disponibles en la literatura.

**Agradecimiento.** Se utilizarán para reconocer a aquellas personas que han hecho contribuciones sustanciales al trabajo o han prestado asistencia técnica. Igualmente, para reconocer a las instituciones que han brindado apoyo financiero a la investigación se debe anexar al pie de página en la primera parte del trabajo, es decir, debajo de las palabras claves, indicando la llamada número 1 al terminar el título e incluyéndose, debajo de la página del resumen.

**Cuadros.** Cada cuadro se presentará en hoja separada, colocada a continuación del texto donde se haga alusión a él por primera vez, y seguirán la paginación del texto. El contenido de los cuadros no debe ser duplicado en las figuras. Los asteriscos se usarán para mostrar el nivel de significancia estadística de 0,05 (\*), 0,01 (\*\*), y 0,001 (\*\*\*); los asteriscos deben ir acompañados del nombre de la prueba estadística realizada. Para otras llamadas deberán utilizarse otros símbolos. El título del cuadro debe ser concreto y expresar el contenido del mismo. Los cuadros deben ser elaborados utilizando la tabla del programa Words, Harvard Graphic o Excel.

**Figuras.** Se entiende por figura cualquier ilustración que se incluya en el trabajo (gráficos, dibujos, fotografías, esquemas, mapas). Estas no deben ser una duplicación de la información de los cuadros. Las figuras pueden dibujarse a mano alzada con tinta china en papel albanene, o elaboradas con un Software y reproducidas en impresora láser. De ser posible, use figuras de 1/2 página (9 x 11 cm). No

es deseable usar letras mayúsculas en el título el cual debe colocarse en la parte inferior de la figura.

En caso de usar fotografías, las leyendas se describirán en hoja aparte, con el respectivo número de la figura. Se requieren los negativos o diapositivas, marcadas por detrás con lápiz suave, con el número de la figura y el título del artículo.

Para las fotografías y otros dibujos digitalizados, deberán procesarse en formato TIFF (cmyk). En cuanto a los gráficos (líneas, barras, tortas...) se recomienda utilizar los programas Power Point, Harvard Graphic o Excel, con la información adjunta la cual se elabora la figura, de tal manera que cuando se requiere pueda ser modificada en la oficina de edición de la revista. No use innecesariamente figuras tridimensionales.

Debe evitar el uso del color en los gráficos y demás figuras, ya que esto encarece la edición de la revista. De requerirse el uso del color en las fotografías, agrúpelas y enumérelas secuencialmente.

**Bibliografía.** Sólo deben ser incluidas publicaciones que estén disponibles en las bibliotecas; las comunicaciones personales serán citadas en el texto al pie de página indicando el nombre completo y la dirección del autor de la comunicación, el año en que se produjo. Las citas bibliográficas deben ser ordenadas alfabéticamente siguiendo el siguiente esquema:

- **Artículos de revistas:** autor(es), colocar el apellido del primer autor y luego la inicial del nombre, para los otros autores, primero la inicial del nombre y luego el apellido (en mayúscula); año de la publicación; título del artículo; abreviatura del nombre de la revista; volumen; página inicial y final del artículo.
- **Libros y folletos:** autor(es), año de la publicación, título, editor o traductor, número de la edición, lugar de la publicación (ciudad), casa editorial, paginación y serie.
- **Artículos en una publicación colectiva:** autor(es), año de la publicación, título del artículo, preposición latina **In** en negrita y seguida de dos puntos (:), luego la referencia completa del libro.
- **Tesis:** autor, año, título, la palabra tesis, el grado académico en forma abreviada y en el mismo idioma en que está redactada la tesis, ciudad, país, universidad, facultad y número de páginas.

Dos o más artículos del mismo autor(es) deben ser ordenados cronológicamente, en caso de ser del mismo año debe usarse letras minúsculas a, b, c, d, etc.

**Revisión de los Manuscritos.** La revista garantiza la confidencialidad en el proceso de revisión de los trabajos por parte de especialistas reconocidos.

**Estilo.** Los entes biológicos deben ser identificados por sus nombres científicos completos (binomial) en el título (cuando se requiera así como en el resumen, summary y la primera vez que se mencionan en el cuerpo de trabajo.

Los nombres de productos comerciales deben evitarse, prefiriéndose el nombre genérico. Cuando ello sea posible utilícelo seguido del símbolo®.

Los nombres de las variedades, cultivares e híbridos deberán acompañarse de virgulillas o comillas simples sólo cuando se mencionen por primera vez en el resumen, en el summary y en el cuerpo del artículo.

Los suelos deben ser identificados taxonómicamente; si el nombre de la serie no es muy conocido deberá señalarse la familia.

Los símbolos no tienen plural ni llevan punto (.) después de ellos, y sólo se escriben en mayúsculas aquellos derivados de nombre propios Celsius, Kelvin, Joule.

Los decimales deben separarse con coma (,) y no con punto (.). Las unidades de mil o millón se indicarán con un espacio en blanco.

La abreviatura correspondiente a Agronomía Tropical es Agronomía Trop.

Para más detalles de estilo y presentación obsérvese los últimos números de la revista.

Los símbolos a usar son:

	<b>Símbolo/abrev,</b>	<b>reemplaza</b>
ácido graso volátil	AGV	
Ad libitum	Ad lib.	
centímetro,	cm (10 <sup>-2</sup> m)	
centimole por kilogramo,	c mol kg <sup>-1</sup> ,	meq por 100g
decímetro,	dm	
kilómetro,	km (10 <sup>3</sup> m)	
hectárea,	ha	
metro cúbico,	m <sup>3</sup>	
litro,	l	

grado Celsius,	°C	
grado Joule,	J,	caloría
grado Kelvin	°K	
gramo,	g	
kilogramo,	kg	
tonelada,	t	
mega gramo,	Mg,	
megapascal,	M Pa,	bar
metro,	m,	
metro cuadrado,	m <sup>2</sup>	
microgramo,	µg (10 <sup>-6</sup> g)	
micra	m	
micromilímetro,	mm (10 <sup>-6</sup> m),	microm
miligramo,	mg (10 <sup>-3</sup> g)	
milímetro,	mm (10 <sup>-3</sup> m)	
nanogramo,	ng (10 <sup>-9</sup> g)	
nanómetro,	nm (10 <sup>-9</sup> m),	Angstrom
kilocalorías	kcal	
kilogramo/hectárea,	kg ha <sup>-1</sup>	
toneladas/hectárea,	t ha <sup>-1</sup>	
gramo por kilogramo,	g kg <sup>-1</sup>	
miligramo por kilogramo,	mg kg <sup>-1</sup> ,	ppm
metro sobre el nivel del mar	m.s.n.m.	

La revista proporcionará gratis una revista por autor de los artículos.

Los autores procedentes del INIA, previamente deben someter el manuscrito a consideración del Editor Regional de acuerdo a su región de adscripción.

Para el registro de autor y envío del manuscrito, se emplea el sistema electrónico de administración de la revista Open Journal System (OJS) al cual se accede a través del sitio [www.ojs.inia.gob.ve](http://www.ojs.inia.gob.ve).

Para reproducir un material o parte de él, deberá obtenerse el permiso de la revista.

El alcance completo, la adquisición y las instrucciones para la descarga y reproducción del material publicado en la página Web de las revistas científicas del INIA, está disponible en línea <http://www.inia.gob.ve>.

Impreso en el Taller Gráfico del INIA  
Maracay, estado Aragua, Venezuela  
Marzo 2014

Agronomía  
Tropical

Agronomía  
Tropical

Agronomía  
Tropical

Agronomía  
Tropical