



**Órgano de divulgación de la Facultad de Agronomía  
Universidad de San Carlos de Guatemala**

**Vol. XXIV, No. 1**



**Guatemala  
2006**

**Facultad de Agronomía**  
**Universidad de San Carlos de Guatemala**

**Junta Directiva**

Decano: Dr. Ariel Ortiz López  
Secretario: Ing. Agr. Pedro Peláez  
Vocal I: Ing. Agr. Alfredo Itzep Manuel  
Vocal II: Ing. Agr. Walter Arnoldo Reyes S.  
Vocal III: Ing. Agr. Danilo Ernesto Dardón Ávila  
Vocal IV: MEPU: Elmer Antonio Álvarez Castillo  
Vocal V: PMP: Miriam Eugenia Espinoza Padilla

**Comité Editorial**

Ing. Agr. Juan Herrera Ardón  
Periodista: Dennis Escobar Galicia

Revista  **tikalia**  
Facultad de Agronomía  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
Ciudad Universitaria, zona 12  
Guatemala, Guatemala  
Teléfono: (502) 2476-9770  
Fax: (502) 2476-9770  
Correo electrónico: [comited.agro@usac.edu.gt](mailto:comited.agro@usac.edu.gt)

## **PRESENTACIÓN**

TIKALIA, órgano de divulgación con aportes científico-tecnológicos en sistemas de producción agrícola y recursos naturales renovables, en este número contiene artículos elaborados por profesores e investigadores de la Facultad de Agronomía y por egresados de la misma.

Los artículos incluidos en este número de TIKALIA son los siguientes:

**“Distribución, densidad, hábitat, época de floración y especies de vainilla silvestre (*Vanilla* sp.) presentes en el municipio de Ixcán, Quiché”**, de Febronio Tún López. Ésta es una investigación en la que se demuestra que en el lugar estudiado se encontraron las siguientes 6 especies de vainilla silvestre: *Vanilla odorata* C. Presl, *Vanilla hartii* Rolfe, *Vanilla inodora* Schiede, *Vanilla cribbiana* Soto Arenas ined., *Vanilla planifolia* Andrews.

**“Estudio filogenético y de distribución de la bacteria *Ralstonia solanacearum* en Guatemala”**, de Amílcar Sánchez, Luis Mejía y Caitlyn Allen. Se demuestra que esta bacteria causa una marchitez que afecta la producción de muchos cultivos de importancia económica, a saber: tomate, papa, banano, tabaco.

**“Adsorción, disipación y movimiento de simazina en el suelo de un viñedo del Valle de Casablanca, Chile”**, de Ramiro Arnoldo López Pineda. Con esta tesis el autor obtuvo una Maestría en Ciencias en la Pontificia Universidad Católica de Chile. En ella concluye, entre otras cosas, que la simazina fue mayormente adsorbida entre los 45 y 60 cm del suelo.

**“Fisiología de la maduración en la caña de azúcar”**, de Manuel de Jesús Martínez Ovalle. Concluye, entre otras cosas, que la planta de caña de azúcar requiere de un descenso de la temperatura ambiental que haga más amplio el rango entre la máxima temperatura

diurna y la mínima nocturna, así como una reducción drástica de la humedad del suelo.

**“Fertilización de plantas forestales”**, de Eddi Alejandro Vanegas Chacón, Aníbal Sacbajá y Boris Méndez Paiz. En el artículo se describen los fundamentos en que se basa la recomendación de fertilizantes, de manera que el profesional o técnico forestal pueda implementar un programa que satisfaga sus intereses productivos.

**“Suelos forestales”**, de Eddi Alejandro Vanegas Chacón y Boris Méndez Paiz. En el artículo se concluye que la clasificación categórica del suelo debe ser estudiada e investigada como tal, a fin de generar y posteriormente consensuar la aplicabilidad de técnicas que permitan el manejo holístico de los suelos en analogía “a la condición natural” para garantizar el uso sostenible de los bosques naturales.

Comité Editorial.

## CONTENIDO

- 7** Distribución, densidad, hábitat, época de floración y especies de vainilla silvestre (*Vanilla sp.*) presentes en el municipio de Ixcán, Quiché.

*Febronio Tun López.*

---

- 17** Estudio filogenético y de distribución de la bacteria *Ralstonia solanacearum* en Guatemala.

*Amílcal Sánchez, Luis Mejía, Caitilyn Allen.*

---

- 35** Adsorción, disipación y movimiento de simazina en el suelo de un viñedo del valle de Casablanca, Chile.

*Ramiro Arnoldo López Pineda.*

---

- 61** Fisiología de la maduración en la caña de azúcar.

*Manuel de J. Martínez.*

---

- 85** Fertilización de plantaciones forestales.

*Eddi Alejandro Vanegas Chacón, Aníbal Sacbajá,  
Boris Méndez Paiz.*

---

- 93** Suelos forestales.

*Eddi Alejandro Vanegas Chacón, Boris Méndez Paiz.*

**DISTRIBUCIÓN, DENSIDAD, HÁBITAT,  
ÉPOCA DE FLORACIÓN Y ESPECIES DE  
VAINILLA SILVESTRE (*Vanilla sp.*)  
PRESENTES EN EL MUNICIPIO DE IXCÁN,  
QUICHÉ**

*Febronio Tun López\**



---

**RESUMEN**

El estudio realizado en el municipio de Ixcán sobre la distribución, densidad, hábitat, época de floración y especies de vainilla silvestre presentes, se llevó a cabo durante un periodo de 10 meses, del mes de agosto del 2005 al mes de mayo del 2006.

Previo a la exploración se establecieron cuales serían las comunidades a visitar, a manera de cubrir el área del municipio.

A través de las instituciones que trabajan en Ixcán se localizó a los líderes, quienes permitieron transmitir la información a los habitantes de sus comunidades sobre la exploración de la vainilla.

Después de localizar a las personas que conocen las plantas de vainilla, se realizaron caminamientos hacia los sitios en las que se ubican las plantas y se procedió a tomar datos de interés para la investigación.

Además de la ayuda de los agricultores, se realizó la exploración a través de caminos y brechas en el interior de la selva. También se establecieron rumbos en áreas de las comunidades de mayor conocimiento.

Los especímenes de vainilla colectados, fueron llevados al Herbario "José Ernesto Carrillo" -AGUAT- de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, para su determinación botánica; la misma se hizo auxiliándose de claves botánicas elaboradas para Guatemala, Nicaragua y Costa Rica.

En la región explorada se encontraron 62 plantas de vainilla, distribuidas en 6 especies; siendo éstas: *Vanilla odorata* C Presl, *Vanilla hartii* Rolfe, *Vanilla insignis* Ames, *Vanilla inodora* Schiede, *Vanilla cribbiana* Soto Arenas ined. y *Vanilla planifolia* Andrews. Siendo la *V. odorata* la más abundante de 4 km<sup>2</sup>/planta.

Las plantas de vainilla fueron encontradas en pequeños claros dentro de la selva, en plantaciones de café y cardamomo y a la orilla de las fuentes de agua.

La mayoría de las especies florecen en el mes de abril a excepción de la *V. cribbiana* que florece en los meses de mayo, junio y julio y, la *V. odorata* que florece en los meses de marzo y abril, también en los meses de agosto, septiembre y noviembre.

## Introducción

El género *Vanilla*, al que pertenece la vainilla, se encuentra en los bosques subtropicales e incluye más de 100 especies.

La vainilla es una orquídea semiepífita originaria de Mesoamérica muy apreciada por el aroma de sus frutos y por la sustancia que ésta sintetiza (vainillina), siendo su fórmula química C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>.

Aunque no se tenían reportes oficiales de la existencia de otras especies de vainilla en el territorio, existían evidencias transmitidas verbalmente de que existían especies en la selva del Ixcán. Por las descripciones escuchadas era probable que se encontraran especies distintas a las reportadas en la Flora de Guatemala; por ello se desarrolló el presente trabajo, el cual consistió en hacer una exploración en la selva del Ixcán para localizar las plantas de vainilla, obteniendo información sobre distribución, densidad, hábitat, época de floración y especies presentes.

Dicha exploración fue realizada con la ayuda de los agricultores que conocen la vainilla; además del conocimiento de los agricultores sobre la localización de la vainilla, se hicieron exploraciones por los caminos y brechas dentro de la selva y en algunos casos a través de rumbos, encontrando únicamente 62 plantas de vainilla silvestre en las áreas muestreadas del Ixcán.

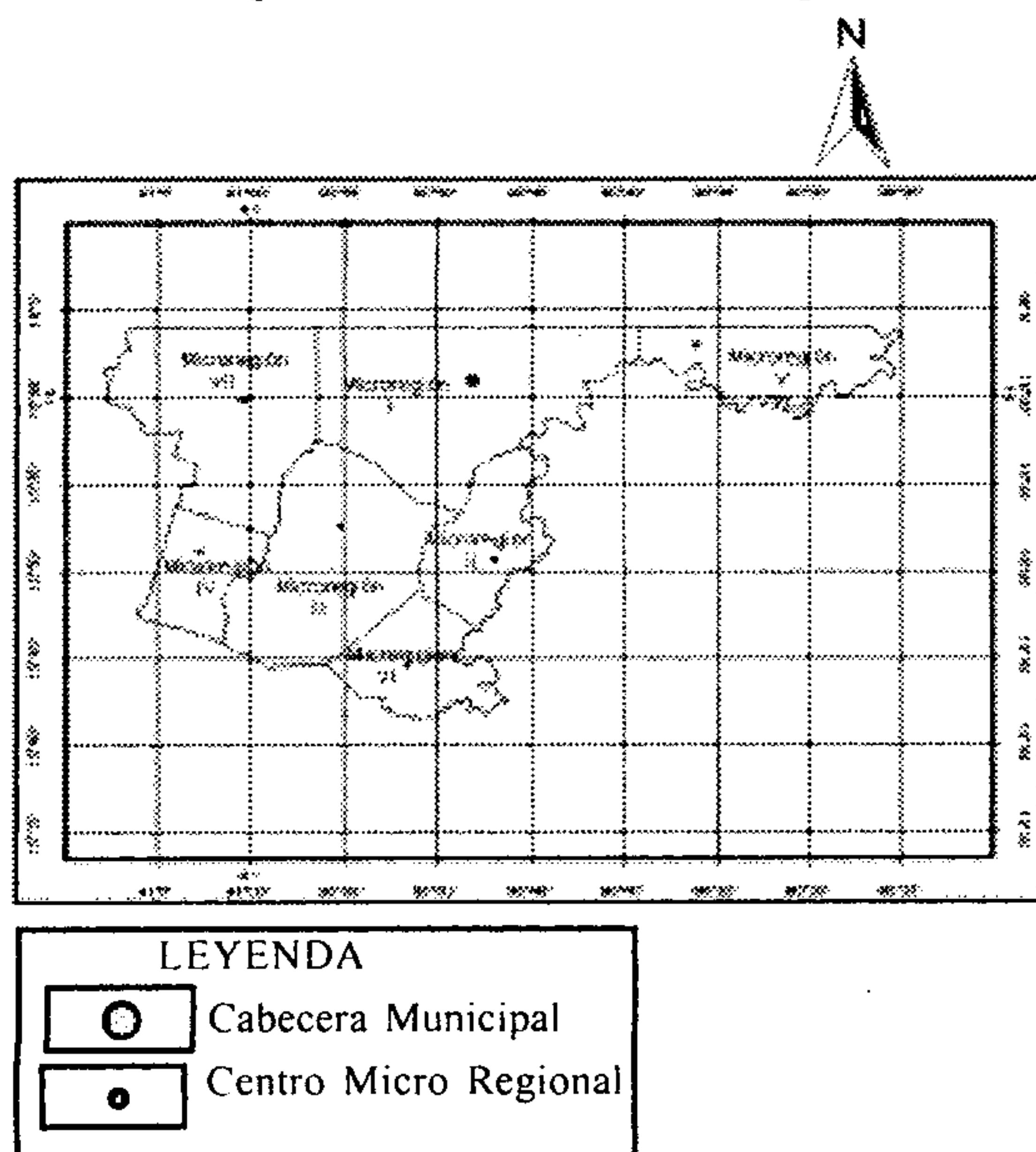
Después de la colecta de los materiales se determinaron 6 especies de vainilla silvestre, siendo las siguientes: *Vanilla odorata* C Presl, *Vanilla hartii* Rolfe, *Vanilla insignis* Ames, *Vanilla inodora* Schiede, *Vanilla cribbiana* Soto Arenas ined. y *Vanilla planifolia* Andrews.

La especie más abundante fue la *V. odorata* con 4 km<sup>2</sup>/planta y la menos abundante fue la *V. insignis* y *V. cribbiana* con 64 km<sup>2</sup>/planta.

## METODOLOGÍA

### FASE I: GABINETE

De acuerdo a las características físicas del lugar y la distribución de las comunidades, se determinó realizar la exploración en las 7 microrregiones del municipio de Ixcán, cubriendo aproximadamente 60 comunidades.



**Figura 1.** Mapa de microrregiones del municipio de Ixcán, El Quiché.

## **FASE II: CAMPO**

### **Identificación de los líderes de la comunidades**

A través de las reuniones que realizan las instituciones se logró visitar a los líderes de las comunidades, quienes conocen mejor a los habitantes y éstos favorecieron la localización de aquellas personas que conocían la vainilla

### **Caminamientos**

Después de localizar a los agricultores que conocen la vainilla, se realizaron los caminamientos observando por el camino y brechas que ellos utilizan para trasladarse, hasta encontrar las plantas de vainilla que ellos ya conocían de su ubicación.

### **Exploración a través de rumbos**

A través de rumbos se prosiguió la búsqueda de vainilla, pudiendo explorar mejor la comunidad de Cuarto Pueblo, Los Ángeles, Pueblo Nuevo e Ixtahuacán Chiquito, siendo éstas las comunidades de mayor conocimiento del área.

### **Monitoreo y toma de datos**

Se monitorearon aquellas plantas de mayor desarrollo, para conocer el mes de floración y madurez de las cápsulas.

Todas las plantas de vainilla encontradas fueron descritas, considerando aspectos morfológicos y hábitat de la plantas.

### **Colecta y determinación de materiales de vainilla**

Se colectaron tallos y hojas que fueron deshidratadas para preservar el material y las flores fueron depositados en frascos con alcohol etílico al 70 % más 5 % de glicerina.

Los materiales fueron determinados en parte en el laboratorio de la Facultad e Agronomía y con el Dr. Miguel Angel Soto Arenas, especialista en vainilla para Mesoamérica y Director del Herbario de la UNAM de México.

### **Resultados y discusión**

Durante la exploración se encontraron las especies siguientes.

*Vanilla odorata* C. Presl

*Vanilla hartii* Rolfe

*Vanilla insignis* Ames

*Vanilla inodora* Schiede

*Vanilla cribbiana* Soto Arenas ined.

*Vanilla planifolia* Andrews

Es importante mencionar que se visitaron 70 comunidades pero sólo en 20 comunidades se encontró vainilla, siendo la aldea de Cuarto Pueblo, Pueblo Nuevo, Los Ángeles, Ixtahuacán Chiquito, Primavera del Ixcán, Victoria 20 de Enero, Flor del Norte, Nuevo Malacatán, Nuevo Cuchumatán, Nuevo San Lorenzo, San Antonio Tzejá, Santiago Ixcán, Esquipulas, Cimientos la Esperanza, Las Flores, Tres Ríos, Cabecera municipal, Santa María Tzejá, Santa María Dolores y San Pablo. En total se encontraron 62 plantas distribuidas en las 6 especies.

La comunidad de Cuarto Pueblo fue la más explorada donde se encontró 36 plantas de vainilla y donde se localizaron las 6 especies de vainilla.

El rango altitudinal donde se encontraron las plantas de vainilla fue de 180 m.s.n.m. hasta los 300 m.s.n.m., pero la mayoría de las plan-

tas de vainilla se encontraron a una altura sobre el nivel del mar de 200 a 230.

La densidad poblacional de las especies es muy bajo, siendo la *V. odorata* de 4 km<sup>2</sup>/planta, *V. hartii* de 6 km<sup>2</sup>/planta, *V. inodora* 11 km<sup>2</sup>/planta, *V. planifolia* km<sup>2</sup>/planta, *V. insignis* 64 km<sup>2</sup>/planta y *V. cribbiana* km<sup>2</sup>/planta. La baja densidad de las especies se debe posiblemente a la baja viabilidad de las semillas, por la baja población de polinizadores específicos.

### Principales características morfológicas de las especies

#### *V. odorata*

Hojas carnosas coriáceas, lineal lanceoladas hasta 18 cm de largo y 2.6 cm de ancho, con ápice deflexo, con entrenudos de dos terceras partes del largo de las hojas, inflorescencia de 5 cm de largo, flores de 10 cm de largo, hasta 15 flores sucesivas por inflorescencia, labelo de color amarillo verdoso con borde ligeramente 3 lobado, con bordes apicales cortamente fimbriados, cápsulas aromáticas de hasta 25 cm de largo y 1 cm de grosor.

#### *V. hartii*

Hojas semicarnosas, no coriácea, elíptica, de 10 cm de largo y de 3 cm de ancho, con entrenudos casi igual al largo de las hojas, inflorescencia de 1.5 cm de largo, flores de 6 cm de largo, hasta 10 flores sucesivas por inflorescencia, labelo de color blanco cremoso, con borde entero, cápsulas aromáticas de 12 cm de largo y 0.8 cm de grosor.

#### *V. insignis*

Hojas carnosas, coriácea, lanceolada de 16 cm de largo y 3.5 cm de ancho, con ápice abruptamente acuminado, con entrenudos de dos terceras partes del largo de la hoja, tallo papiloso, inflorescencia de 8 cm de largo, flores de 13.5 cm de largo, hasta 17 flores sucesivas por inflorescencia, labelo de color blanco cremoso, con ápice ligeramente 3 lobado,

con bordes fimbriados y con apéndices de color anaranjado distribuidos en surcos a lo largo del labelo, cápsulas de 15 cm de largo y 1 cm de grosor.

#### *V. inodora*

Hojas membranosas oblonga elíptica de 15 cm de largo y 6 cm de ancho, con entrenudos de dos terceras partes del largo de la hoja, tallo de consistencia dura, inflorescencia de 21 cm de largo, hasta 8 flores por inflorescencia y distantes, brácteas en forma de hojas de hasta 5 cm de largo, labelo de color blanco, entero 3 lobado con el ápice emarginado, pétalos y sépalos revoluto, antera bicornis, cápsulas no aromáticas de 20 cm de largo y 0.8 cm de grosor.

#### *V. cribbiana*

Hojas semicarnosas oblonga, de 16 cm de largo y 6 cm de ancho, con entrenudos de dos terceras partes del largo de la hoja, inflorescencia de 30 cm de largo, hasta 50 flores por inflorescencia, flores sucesivas de 8.5 cm de largo, labelo de color anaranjado, cápsulas aromáticas de 12 cm de largo y 1.7 cm de grosor y de forma triangular.

#### *V. planifolia*

Hojas carnosas oblonga elíptica, de 15 cm de largo y 5 cm de ancho, entrenudos de dos terceras partes del largo de la hoja, inflorescencia de 10 cm de largo, hasta 36 flores, flores sucesivas de 10 cm de largo, labelo de color verde pálido, entero, cápsulas aromática de 15 cm de largo y 1 cm de grosor.

La época de floración de las especies es variada, la *V. odorata* florece en los meses de marzo, abril, agosto, septiembre y noviembre, aunque no todas las plantas de ésta especie florecen en todos éstos meses. Ésta especie es la más vigorosa, con abundantes flores, las plantas tardan 2 meses de producir flores. La *V. cribbiana* florece en los meses de mayo, junio y julio, mientras las otras especies florecen en el mes de abril.

La producción de cápsulas de éstas especies es muy difícil, debido a que el rostelo se encuentra sobre el estigma, impidiendo una fecundación por el viento u otros insectos no especializados, más sin embargo se han encontrados algunas cápsulas de forma natural que pudieron ser polinizadas por insectos, tales como la melipona, doncella (*Tetragonisca angustula*) que se encontraron posando en algunas flores de la vainilla.

En caso de la polinización manual debe hacerse antes del medio día, pues es cuando las flores están bien abiertas, aunque algunas flores polinizadas en horas de la tarde fueron fecundadas.

Para la polinización basta utilizar un palillo del grosor de una aguja que sirve para levantar completamente el rostelo y luego bajar la antera donde se encuentra la polinia y cuando éste se encuentra enfrente del estigma, se presiona levemente para que las polinias queden impregnadas en el estigma. Las flores que no son fecundadas caen al día siguiente.

La forma de polinizar las flores de *V. inodora* es diferente, pues el rostelo no resulta un obstáculo, ya que es demasiado pequeño, pero es necesario levantar la antera donde se encuentra la polinia y a través de un raspado con el palillo, se lleva las polinias al estigma.

El hábitat donde se encuentran todas las especies son similares, encontrándose en pequeños claros dentro de la selva, en espacios utilizados con anterioridad para la agricultura e incluso en plantaciones de café y cardamomos abandonadas.

También fueron encontradas a la orilla de pantanos, arroyos y ríos, por ser una planta exigente en humedad

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En el municipio de Ixcán se encontraron 6 especies de vainilla silvestre siendo éstas:

*Vanilla odorata* C. Presl

*Vanilla hartii* Rolfe

*Vanilla insignis* Ames

*Vanilla inodora* Schiede

*Vanilla cribbiana* Soto Arenas ined.

*Vanilla planifolia* Andrews

Según Soto Arenas, La *Vanilla pfaviana* reportada en la Flora de Guatemala, es un sinónimo de *Vanilla inodora* y la *Vanilla* reportada como *Vanilla pompona*, es realmente *Vanilla cribbiana*.

**La especie nueva para Guatemala es la *V. insignis*.**

Las especies *V. hartii*, *V. insignis*, *V. inodora* y *V. planifolia* florecen en el mes de abril, mientras la *V. cribbiana* florece en el mes de mayo, junio y julio y la *V. odorata* florece en algunos casos en el mes de marzo, abril, agosto, septiembre y noviembre.

Las especies de vainilla fueron encontradas en claros dentro de la selva, en áreas utilizadas con anterioridad en la agricultura, entre plantaciones de café y cardamomo abandonadas y a la orilla de los caminos, pantanos, arroyos y ríos. Las especies de árboles que rodean a las plantas de vainilla es variada, no teniendo ésta preferencia con algunas especies.

La *V. odorata* es la especie más abundante, teniendo una densidad de 4 km<sup>2</sup>/planta y la especie menos abundante es la *V. cribbiana* y *V. insignis* de 64 km<sup>2</sup>/planta.

Las especies de *V. odorata* y *V. cribbiana*, pueden ser utilizadas en programas de mejoramiento genético, tendientes a producir variedades para el cultivo comercial. Además puede buscarse un mercado para la especie *V. cribbiana*, que es una especie que florece mucho y tiene cápsulas muy aromáticas.

Par conocer más sobre las especies debe realizarse exploraciones a nivel nacional para completar el conocimiento de las especies de vainilla presentes en Guatemala y determinar los polinizadores específicos de las especies de vainilla.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ames, O; Correll, D. 1952. Orchid of Guatemala. US, Chicago, Field Museum of Natural History, Fieldiana Botany. v. 26, No. 1 p. 55-60.
2. Asociación Costarricense de Orquidología. 2000. Manejo del cultivo de la vainilla (en línea). San José, Costa Rica. Consultado 12 Set. 2006. Disponible en <http://www.ticorquideas.com/cartas/mayo2000.doc>
3. Behar, M. 1993. Orquídeas de Guatemala, Guatemala, Asociación Guatemalteca de Orquideología. 32 p.
4. Cronquist, A. 1987. Introducción a la botánica. Trad. Antonio Mariano. 9 ed. México, Continental. p 13-19.
5. Dix, AM. 2000. Orchid of Guatemala. US, Missouri Botanical Garden. Universidad del Valle de Guatemala. v. 78, 61 p.
6. Dressler, R. 1993. Field guide to the orchids of Costa Rica and Panama. US, Comstock / Cornell. p. 324-326.
7. Mittaelstaedt, O. 1999. Orquídeas terrestres de Guatemala. Guatemala, Asociación Altaverapacense de Orquidología. 195 p.
8. Natural History Museum, US. 2005. Flora Mesoamericana: listado anotado (en línea). US. Consultado 12 set 2006. Disponible en <http://mobot.mobot.org/Pick/Search/meso.html>
9. Stevens, W; Ulloa, C. 2001. Flora de Nicaragua: angiospermas. Ed. por Any Pool y Olga Martha Montiel. US, Missouri Botanical Garden. v. 85, tomo 2, p.1854-1856.

---

\*Ingeniero Agrónomo en Recursos Naturales Renovables.

## ESTUDIO FILOGENÉTICO Y DE DISTRIBUCIÓN DE LA BACTERIA *Ralstonia* *solanacearum* EN GUATEMALA

*Amílcar Sánchez\**

*Luis Mejía\**

*Caitilyn Allen\*\**



### INTRODUCCIÓN:

La marchitez causada por la bacteria *Ralstonia solanacearum* (anteriormente llamada *Pseudomonas solanacearum*) es una de las enfermedades que afecta la producción de muchos cultivos de importancia económica, incluyendo papa, tomate, bananos, tabaco y otros que se cultivan alrededor del mundo. (1,5,12,13). El patógeno es un habitante natural del suelo, puede sobrevivir en residuos de cosechas, en malezas, en agua estancada. La bacteria se dispersa fácilmente por medio de material vegetal de propagación con infección latente, por herramientas de labranza, insectos polinizadores en banano, suelos infestados, agua de riego, por frutos infectados (1,12,14,21) El patógeno invade el tejido vascular de la planta hospedera entrando a través de heridas o aberturas naturales en la raíz, colonizando el xilema e interrumpiendo el flujo de agua. Los síntomas de la marchitez bacteriana incluyen amarillamiento, necrosis de los haces vasculares, seguida inmediatamente de la marchitez completa de la planta. Signos de la enfermedad son fluido bacterial a partir del tallo cortado. (11). El control de la marchitez bacteriana es muy difi-

cil, siendo la resistencia genética la mejor estrategia para su manejo (10). Esto demanda un programa de mejoramiento genético contra las cepas existentes localmente.

La bacteria ha sido clasificada en 5 razas basado vagamente en el rango de plantas hospederas; también ha sido clasificada en 5 biovares basado en la habilidad de utilizar u oxidar una serie de carbohidratos (3,11,12). Recientes estudios moleculares han revelado una alta diversidad genética de la bacteria *Ralstonia solanacearum* razón por la cual se le considerada como un complejo de especies. (8). Un sistema de clasificación filogenético basado en la comparación de la secuencia de la región intergénica de los genes ribosomales 16S-23S y otro comparando la secuencia de los genes de *endoglucanasa*, *hrpB* y *mutS* de *Ralstonia solanacearum*, analizando la secuencia de la región intergénica y la de estos tres genes se obtienen árboles filogenéticos idénticos el cual divide el complejo de especie en 4 filotipos; estos grupos filogenéticos están basados en el origen geográfico de la bacteria, así en el filotipo I se encuentran las cepas aisladas en Asia; en el filotipo II se encuentran las cepas aisladas en América; en el filotipo III se encuentran las cepas aisladas en África y en el filotipo IV las aisladas en Indonesia. (5,8,17). Estos filotipos pueden ser subagrupados en 23 sequevares basados en la similaridad que presentan las secuencias de ADN.

En 2002, el subgrupo de *R. solanacearum* denominado raza 3 biovar 2, fue colocado por el gobierno de Estados Unidos en la lista de agentes seleccionados como bioterrorismo (15). Este subgrupo es mejor conocido como una enfermedad de la papa, el cual también puede infectar geranio y tomate. (14,21). Usando el sistema filogenético propuesto por Fegan y Prior, (8) el grupo de la raza 3, biovar 2 corresponde al sequevar 1.

Métodos de moleculares como PCR usando cebadores universales están disponibles para diagnosticar la presencia de *R. solanacearum*. (16).

Dos pares de cebadores para PCR han sido publicados para identificar específicamente la raza 3 biovar 2. (7,20).

En Guatemala *R. solanacearum* ha afectado desde hace varios años el cultivo de la papa, la enfermedad es conocida por los productores de papa como "moco de la papa".

El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar la diversidad genética y distribución de *R. solanacearum* en Guatemala. La información generada servirá en el programa de mejoramiento genético de tomate contra la marchitez bacteriana causada por *R. solanacearum* en Guatemala, ya que es muy importante conocer el patógeno contra el cual se está haciendo el mejoramiento genético y podrá ser utilizada en la implementación de un programa de manejo integrado del patógeno.

### **Metodología:**

#### **Colecta de muestras vegetales infectadas con *Ralstonia solanacearum***

En diferentes épocas de los años 2004 y 2005, se colectaron muestras en áreas donde agricultores reportaban problemas de marchitamiento de tomate, papa, berenjena y malezas en dichos campos de cultivos. Asimismo se colectaron muestras en plantaciones de banano, donde se logró obtener permiso para la colecta. Se realizaron varias visitas en el Valle de San Jerónimo y Salamá, pero en estas áreas no se encontró plantas de tomate con síntomas de marchitez.

#### **Aislamiento de ADN**

El ADN geonómico fue aislado y purificado siguiendo un método estándar.

**Determinación de la presencia de *Ralstonia solanacearum* usando la técnica de PCR con cebadores generales.**

El ADN aislado de todas las cepas aisladas de *R. solanacearum* fueron evaluadas usando el par de cebadores generales (16) cuya secuencia es la siguiente:

759 (5-GTCGCCGTCAACTCACTTTCC-3') y

760 (5'-GTCGCCGTCAGCAATGCGGAATCG-3')

Las reacciones fueron realizadas en tubos de 250  $\mu$ l, la mezcla de reacción (25  $\mu$ l volumen total) contenía, 30 ng de ADN genómico como molde 1X PCR buffer sin magnesio, 2.5 mM Mg<sup>++</sup>, 0.25 mM de cada nucleótido (ATP, CTP, GTP y TTP, 20 picomol de cada cebador, 1  $\mu$ l de Taq ADN polimerasa. Las reacciones de PCR fueron amplificadas en un termociclador Techgene bajo las siguientes condiciones: un inicio en caliente 96°C durante 3 minutos fue seguidos de 30 ciclos de 15 segundos a 94 °C, 30 segundos a 58 °C y 30 segundos a 72 °C. La reacción fue completada con 5 minutos a 72 °C. Los productos de PCR fueron corridos en un gel de agarosa a 1.5% y puesto en electroforesis, posteriormente la gel fue sumergida en bromuro de etidio para su tinción y las bandas fueron visualizados con luz UV.

#### **Análisis de PCR para identificación de raza 3 de *Ralstonia solanacearum*:**

Las reacciones fueron realizadas usando un termociclador Techgene. Las reacciones fueron realizadas en tubos de 250  $\mu$ l, usando un par de cebadores específicos para raza 3 (7) cuyas secuencias son las siguientes 630 (5'-ATACAGAATTCGACCGGCAC-3') y 631 (5'AATCACA-TCCAATTCGCCTACG-3'),

La mezcla de reacción (25  $\mu$ l total volumen) contenía 30 ng de ADN genómico como molde, 1X PCR buffer sin magnesio, 2.5 mM Mg<sup>++</sup>, 0.25 mM de cada nucleótido (dATP, dCTP, dGTP y dTTP), 20 picomol de cada cebador, 2.5 U de Taq polimerasa. Las condiciones en el programa de PCR fueron: un inicio a alta temperatura a 96°C durante 3

minutos, seguido por 30 ciclos de 15 segundos a 94°C, 30 segundos a 58°C y 30 segundos a 72°C.

La reacción fue completada con 5 minutos a 72°C. Los productos de PCR fueron corridos en una gel de agarosa de 1.5% vía electroforesis; las bandas fueron visualizadas con luz UV después de su tinción con bromuro de etidio.

### **PCR múltiple para la caracterización de filotipo:**

La reacción fue realizada en un volumen total de 25  $\mu$ l, el cual contenía 30 ng de ADN geonómico, 1x PCR buffer sin magnesio, 2.5 mM Mg<sup>++</sup>, 0.25 mM de cada nucleótido de ATP, CTP, GTP and TTP, 2,5 U de Taq ADN polimerasa, La secuencia de los cebadores y la cantidad utilizada de cada uno de ellos en la reacción son las siguientes:

7 pmol del cebador Nmult:21:1F (5'-CGTTGATGAGGCGCGCAATTT-3'), 7 pmol del cebador Nmult:21:2F (5'-AAGTTATGGACGGTGGA-AGTC-3') 18 pmol del cebador Nmult:23:AF (5'-ATTACSAGAGCA-ATCGAAAGATT-3') 7 pmol del cebador Nmult:22:InF (5'-ATTGCCA-AGACGAGAGAAGTA-3') 10 pmol del cebador Nmult:22:RR (5'-TCGCTTGACCCTATAACGAGTA-3') 6 pmol del cebador 759 (5-GTCGCCGTCAACTCACTTTCC-3'),

6 pmol del cebador 760 (GTCGCCGTTCAGCAATGCGGAATCG-3').

La reacción de PCR fue realizada en un termociclador Techgene bajo las siguientes condiciones: un inicio a alta temperatura 96°C durante 3 minutos, seguido de 30 ciclos de 15 segundos a 94°C, 30 segundos a 58°C y 30 segundos a 72°C. La reacción fue completada con 5 minutos a 72°C. Se realizó una electroforesis con los productos de PCR en una gel de agarosa a 1.5%, seguidamente la gel fue sumergida en bromuro de etidio, posteriormente las bandas fueron visualizadas con luz UV. Las siguientes cepas fueron utilizadas como controles positivo para los cuatro filotipos: UW363 para filotipo I; K60 para filotipo II; UW386 para filotipo III; y UW443 para el filotipo IV.

## Caracterización de Biovar

Con el objetivo de poder clasificar las cepas aisladas en biovar, es decir, determinar la habilidad de la bacteria de poder utilizar u oxidar determinados carbohidratos, una serie de experimentos fueron realizados. 20 ml de cada una de los siguientes soluciones (10 % peso/vol) como fuente de carbohidratos fue utilizado, Dextrosa, Lactosa, Dulcitol y d D-mannitol; las soluciones fueron esterilizadas a través de filtración y fueron agregadas a 200 ml del medio de Hayward (11), seguidamente un volumen 2 ml del medio resultante fueron agregados en cada celda de una placa con múltiples celdas (Multiwell™ Tissue Culture Plate 24 well). Medio de Hayward sin ningún carbohidrato fue utilizado como control negativo. Una suspensión a una concentración de  $1 \times 10^8$  CFU/ml fue preparado de cada una de las cepas. Como control positivo se utilizaron las siguientes cepas para biovar 1 (K60), para biovar 2 (UW 551), para biovar 3 (GMI 1000), para biovar 4 (UW 151) y para biovar 5 (UW 373). El presente trabajo se realizó con 3 repeticiones. Cada celda fue inoculada con 3  $\mu$ l de la suspensión de bacterias preparadas y posteriormente incubada a 28°C durante 3 semanas. Se hicieron lecturas de la oxidación del medio de cultivo a cada 2 días.

**PCR para la amplificación de un fragmento del gen de *Endoglucanasa*** Amplificación de un fragmento de 750 pares de bases del gen de *Endoglucanasa* fue obtenida usando el siguiente par de cebadores:

Endo-F (5'-ATGCATGCCGCTGGTCGCCGC-3')

y Endo-R (5'-GCGTTGCCCGGCACGAACACC-3'), los demás componentes de la reacción fueron 1X buffer de *pfu* ADN Polimerasa, 0.25 mM de cada dNTP; 6% DMSO, 20 pmol de cada cebador; 100 ng de ADN como molde y 5U de *Pfu High fidelity* ADN Polimerasa.

Las reacciones de PCR fueron realizadas en una termociclador Techgene bajo las siguientes condiciones 3 minutos de inicio a temperatura de

96°C, luego 30 ciclos de 30 segundos a 95°C, 45 segundos a 70°C, 1.5 minutos a 72°C, con un paso de extensión final a 72°C durante 10 minutos. Los productos de PCR fueron examinados por electroforesis usando una gel de agarosa a una concentración de 1.5% y las bandas fueron visualizadas con luz ultravioleta después de haber sido teñida con bromuro de etidio.

### **Clonación del fragmento del gen de la *Endoglucanasa***

Los productos de PCR obtenidos fueron clonados en el vector pCR® Blunt II-TOPO (invitrogen™) de acuerdo a las instrucciones de la compañía productora. Después el vector fue introducido en células competentes de DHá5 de *E. coli*, y sembrado sobre el medio sólido de Luria Bertani conteniendo el antibiótico Kanamicina a una concentración 25 µg/ml, posteriormente fue incubado durante la noche a 37°C.

Potenciales células transformadas genéticamente fueron seleccionadas usando la técnica de PCR-colonias, para ello se seleccionaron colonias blancas. Las condiciones de PCR fueron las mismas que se describieron para amplificar el fragmento del gen *endoglucanasa*.

Los productos de PCR fueron examinados por electroforesis y las bandas fueron visualizadas con luz ultravioleta. Se seleccionaron las colonias que contenían el tamaño adecuado de la banda y fueron cultivados a 37°C en el medio líquido de Luria Bertani conteniendo 25 µg/ml de Kanamicina.

El ADN de plásmido fue aislado usando un protocolo estándar.

### **PCR para secuenciación del ADN:**

La reacción de PCR para secuenciación fue realizada en un termociclador Techgene, siguiendo las instrucciones recomendadas por Invitrogen. La secuenciación fue realizada en el Centro de Biotecnología de la Universidad de Wisconsin-Madison y el análisis fue realizado usando el programa ARB (<http://www.arb-home.de>). Las secuencias obtenidas com-

binadas con otras secuencias almacenadas del banco de genes, permitió construir un árbol filogenético en el que se distinguen los 4 diferentes filotipos, fig. 1.

## **Resultados**

### **Determinación de la presencia de *Ralstonia solanacearum* usando PCR:**

Todas las muestras colectadas en Guatemala dieron positivo usando la técnica de PCR con el par de cebadores generales, cuadro 1.

### **Análisis de PCR para identificación de raza 3 de *Ralstonia solanacearum*:**

Los resultados de PCR usando los cebadores 630/631 específicos para raza 3, dieron positivo para todas las muestras de bacteria aisladas de tubérculos de papa y plantas de geranio. También dieron positivo las muestras aisladas de tomate colectados en San Juan Suchitepéquez y una muestra aislada de planta de tomate colectada en Aldea El Volcán, en Camotán Chiquimula.

Las muestras aisladas de banano, de berenjera, de quilete y las muestras aisladas de tomate aisladas en Sanarate, Agua Blanca, Monjas Jalapa, Ipala y El Asintal, no amplificaron la banda correspondiente a la raza 3, por lo cual fueron clasificados como no pertenecientes a la raza 3. cuadro 1.

### **Caracterización de filotipo usando múltiple PCR**

Las muestras aisladas de tomate en Sanarate, Agua Blanca, El Asintal, Monjas Jalapa, Ipala, muestra aisladas de quilete colectado en Sanarate y de berenjena colectada en Estanzuela y se amplificó la banda correspondiente al filotipo I, cuyo origen es Asia, es importante mencionar que estas áreas es donde tradicionalmente se cultiva tomate desde hace muchos años. Todas muestras aisladas de tubérculos de papa, de plantas de geranio, de plantas de tomate en San Juan Suchitepéquez y Aldea

El Volcán, Camotán Chiquimula en estas muestras se amplificaron la banda que los caracteriza como pertenecientes al filotipo II, cuyo origen es el continente americano. Las bacterias aisladas de plantas de banano también se amplificaron la banda correspondiente al filotipo II., ver resumen en el cuadro 1.

### **Caracterización de biovar**

Las muestras aisladas fueron clasificados en biovares de acuerdo a su habilidad para utilizar dextrosa, D-mannitol, dulcitol y oxidar lactosa. Todas las muestras que dieron positivo para el PCR con cebadores de la raza 3, pertenecen al biovar 2. Las muestras aisladas en las plantaciones de banano pertenecen al biovar 1. Las restantes muestras colectadas de tomate, berenjena y, quilete pertenecen al biovar 3.

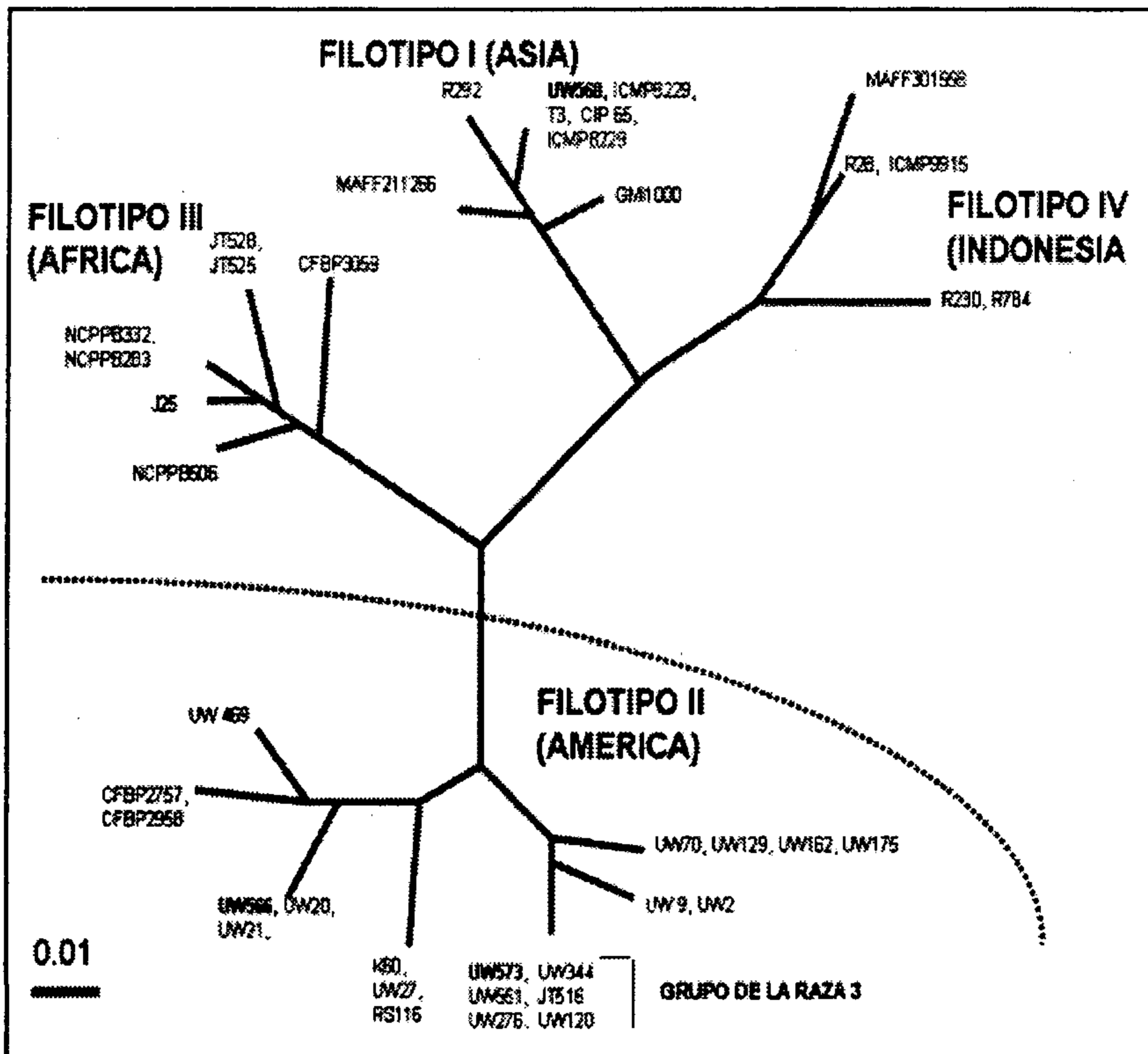
### **Análisis de la secuencia de parcial del gen de Endoglucanasa**

Un fragmento de 750 pares de bases del gen endoglucanasa (*egl*), el cual codifica un factor de patogenicidad de *Ralstonia solanacearum*, fue clonado y secuenciado con el objetivo de poder clasificar con mayor precisión las cepas aisladas en Guatemala. La integración de estas secuencias en el banco de secuencias de *Ralstonia solanacearum* reveló que tres diferentes grupos están presentes en Guatemala. Las secuencias obtenidas de todas las muestras aisladas de papa, geranio, así como las muestras aisladas de tomate en San Juan Suchitepéquez y de tomate en aldea El Volcán, Camotán, poseen la misma secuencia, por lo cual, en el árbol filogenético (Fig. 1) están representadas por la muestra UW573 (muestra aislada de papa en Patzicía), estas muestras también tienen idéntica secuencia con otras cepas pertenecientes a la raza 3 y pertenecen al filotipo II, sequevar 1, cuyo origen es el continente americano.

Todas las secuencias obtenidas de las muestras aisladas de banano, son idénticas y están representadas por UW566 (muestra colectada en finca Mojarras, Coatepeque) en el árbol filogenético (Fig. 1), pertenecen al filotipo II, sequevar 6, cuyo origen es el continente americano.

Mientras que las muestras aisladas de tomate en Sanarate, Agua Blanca, Monjas Jalapa, Ipala, El Asintal; las muestras aisladas de quilete en Sanarate y berenjena en Estanzuela, de todas estas se obtuvieron idéntica secuencia, por lo que están representadas por UW 568, (muestra aislada de tomate en Monjas Jalapa) en la figura 1. y se agrupa en el filotipo I o grupo asiático, específicamente al sequevar 14.

En el cuadro 2 aparece la información de las diferentes cepas utilizadas en la construcción del árbol filogenético.



**Fig. 1.** Árbol filogenético basado en la secuencia parcial del gen de la *Endoglucanasa*, de diversos miembros del complejo de especies *Ralstonia solanacearum*. Muestras en negrillas representan las cepas colectadas en Guatemala, UW566, aislada de banano, UW568 aislada de tomate y UW573 aislada de papa. La barra representa la sustitución de 1 nucleótido por cada 100 nucleótidos.

**Cuadro 1.** Resumen de los resultados obtenidos de las pruebas de PCR, caracterización de biovar, y caracterización filogenético de las diferentes muestras colectadas en Guatemala.

| Hospedero | No. De muestras | Area  | PCR, Cebador general | PCR, Cebador Raza 3 | Biovar | Seque-var | Filo-tipo | Origen           |
|-----------|-----------------|---|----------------------|---------------------|--------|-----------|-----------|------------------|
| Tomate    | 9               | Monjas, Jalapa  | +                    | -                   | 3      | 14        | I         | Asia             |
| Tomate    | 5               | Agua Blanca, Jutiapa  | +                    | -                   | 3      | 14        | I         | Asia             |
| Tomate    | 2               | Ipala, Chiquimula   | +                    | -                   | 3      | 14        | I         | Asia             |
| Tomate    | 5               | Sanarate, El Progreso   | +                    | -                   | 3      | 14        | I         | Asia             |
| Tomate    | 2               | El Asintal, Retalhuleu  | +                    | -                   |        | 14        | I         | Asia             |
| Berenjena | 1               | Estanzuela, Zacapa  | +                    | -                   |        | 14        | I         | Asia             |
| Tomate    | 3               | San Juan Sacatepéquez   | +                    | +                   | 2      | 1         | III       | América Raza 3   |
| Tomate    | 2               | El Volcán, Camotán,   | +                    | +                   | 2      | 1         | II        | América Raza 3.  |
| Papa      | 5               | San Juan Alzatate, Miralmundo, Jalapa                         | +                    | +                   | 2      | 1         | II        | América, raza 3. |
| Papa      | 4               | Patzicía, Chimaltenango                                       | +                    | +                   | 2      | 1         | II        | América, Raza 3. |
| Papa      | 1               | Sololá  | +                    | +                   | 2      | 1         | II        | América, Raza 3. |
| Papa      | 1               | Palencia  | +                    | +                   | 2      | 1         | II        | América, Raza 3. |
| Papa      | 4               | Concepción Chiquirichapa, San Martín Sacatep., Quetzaltenango | +                    | +                   |        | 1         | II        | América, Raza 3. |
| Papa      | 2               | Purulhá, Baja Verapaz   | +                    | +                   | 2      | 1         | II        | América, Raza 3. |
| Banano    | 2               | Coatepeque  | +                    | -                   | 1      | 6         | II        | América          |
| Banano    | 5               | Tiquisate   | +                    | -                   | 1      | 6         | II        | América          |
| Banano    | 3               | Alamo, Tecún Umán   | +                    | -                   | 1      | 6         | II        | América          |
| Banano    | 1               | Morales, Izabal   | +                    | -                   | 1      | 6         | II        | América          |
| Geranio   | 1               | Jalapa  | +                    | +                   | 2      | 14        | II        | América, Raza 3  |
| Quilete   | 1               | Sanarate  | +                    | -                   | 3      | 14        | I         | Raza 3           |

## Discusión

*Ralstonia solanacearum* fue aislado de cuatro importantes cultivos a diferentes altitudes en Guatemala.

En las áreas productoras de tomate, a altitudes entre 250 a 800 metros sobre el nivel del mar, se aisló las cepas de muestras de suelo y tejido vegetal, según las secuencias del gen de la endoglucanasa, estas cepas pertenecen al sequevar 14, y esta agrupado en el filotipo I cuyo origen es Asia. La secuencia del gen de la endoglucanasa de estas cepas son similares a E152, el cual fue aislado de berenjena en Filipinas en 1970; similar secuencia con CIP 65 aislado de chile pimiento y ICMP8229 aislado de jengibre ambas en Costa en los años 1970's. Este dato filogenético sugiere que esta cepa probablemente fue introducido a Costa Rica proveniente de Asia y luego movido de Costa Rica hacia Guatemala. Se realizaron varias visitas al Valle de San Jerónimo y Salamá en varias épocas del año y no se encontró ninguna planta con síntomas provocados por *R. solanacearum*, por lo es importante mantener un buen control para evitar la introducción de este patógeno a esta área que aún permanece libre de *R. solanacearum*. Sin embargo, en Sanarate, Agua Blanca, Ipala, Monjas Jalapa, Estanzuela y El Asintal, la enfermedad se ha convertido en un serio problema y se ha ido dispersando debido al uso de equipo y maquinaria contaminada. De acuerdo a los agricultores la enfermedad apareció hace aproximadamente 10 años, casi al mismo tiempo que el programa de extensión agrícola del MAGA fue eliminado, lo que indica que oficialmente no había nadie que pudiera dar apoyo técnico a los agricultores. Los productores de tomate usualmente son medianos y pequeños productores, que necesitan rentar maquinaria y equipo. En la mayoría de los casos, un solo tractor es utilizado para la mecanización del suelo en varios campos de cultivo. Esta práctica está eficientemente dispersando este patógeno del suelo, y probablemente explica por qué todas las muestras colectadas en las zonas productoras de

tomate poseen la misma secuencia del gen de la endoglucanasa y pueden ser consideradas clonales.

Las 11 cepas aisladas en las zonas productoras de banano en la costa pacífica como en la costa atlántica, poseen idéntica secuencia del gen de la endoglucanasa, agrupándose en el filotipo II, específicamente en el sequevar 6. El origen del filotipo II es el continente americano. La secuencia de la endoglucanasa es idéntica a las cepas UW20 aislada en 1960 en Venezuela y UW21 aislada en 1962 en Costa Rica. Diferente al grupo donde se ubica UW9, aislada por Sequeira (18), de plantas de heliconias en selvas vírgenes de Costa Rica. Antes de que la técnica de *in Vitro*, fuera adoptado el banano era propagado a nuevas áreas usando cormos provenientes de plantaciones viejas, una práctica que eficientemente dispersa patógenos vasculares y patógenos del suelo. Además algunas prácticas agronómicas empleadas en el proceso de producción de banano, como remoción de chupones, eliminación de flores, podas sanitarias, facilita la dispersión del patógeno. Estas prácticas pueden explicar, porque una línea clonal de *R. solanacearum* ha estado causando la enfermedad del moco del banano en Centro América en las plantaciones de banano por más de 45 años.

Las 23 cepas que fueron aisladas a altitudes mayores a 1600 metros sobre el nivel del mar pertenecen al grupo de la raza 3 biovar 2, y según la clasificación filogenética, propuesto por Fegan y Prior (8), estas pertenecen filotipo II y específicamente al sequevar 1. La raza 3 biovar 2 que se ha dispersado desde las tierras altas de Los Andes al resto del mundo, parece ser una cepa clonal. Un reciente estudio de caracterización molecular a nivel de secuencias de ADN provenientes de 96 cepas aisladas alrededor del mundo, no encontró ninguna diferencia.(2). Por lo tanto no es de sorprender que todas las cepas guatemaltecas caracterizadas como raza 3 biovar 2, sean indistinguibles a nivel de la secuencia del gen de la endoglucanasa de las cepa UW120, aislado de papa en Costa Rica en 1965, UW276 aisla-

do de papa en México en 1977, UW551 aislada de geranio en Kenia en 2003, y muchas otras cepas de la raza 3, biovar 2, que se tienen en el banco secuencias de *R. solanacearum*.

En recientes años en Guatemala algunos productores de tomate, han estado buscando nuevas áreas de cultivo, tratando de escapar de problemas causados por la virosis y la marchitez bacteriana; y se han movilizado a altitudes mayores de 1600 metros sobre el nivel del mar, pero en algunos casos están encontrando problemas de marchitez bacteriana, probablemente proveniente de las áreas de producción de papa.

Las papas son propagadas casi exclusivamente por el método asexual. Esto crea muchas oportunidades para que patógenos sean dispersados a nuevas áreas, especialmente en países en vías de desarrollo, como Guatemala, donde los agricultores carecen de asistencia técnica. El reforzamiento del programa de certificación de semilla de papa es de suma importancia, para prevenir la diseminación de éste y otros patógenos a nuevas áreas.

**Cuadro 2.** Resumen de los resultados obtenidos de las pruebas de PCR, caracterización de biovar, y caracterización filogenético de las diferentes muestras colectadas en Guatemala.

| Identificación | Filotipo | Raza | Biovar | Hospedero                   | Lugar de colecta             |
|----------------|----------|------|--------|-----------------------------|------------------------------|
| GMI1000        | I        | 1    | 3      | Tomate                      | Guyana Francesa              |
| UW363          | I        | 1    | 3      | Tomate                      | Guangxi, China.              |
| UW373          | I        | 1    | 5      | Mulberry                    | China                        |
| R292           | I        |      | 5      | Mulberry                    | China                        |
| MAFF211166     | I        |      | 4      | Tomate                      | Japon                        |
| CIP 65         | I        |      | 3      | Chile Pimiento              | Costa Rica                   |
| ICMP8229       | I        |      | 4      | Jengibre                    | Costa Rica                   |
| UW568          | I        | 3    | 2      | Tomate                      | Monjas Jalapa, Guatemala     |
| UW151          | I        | 1    | 4      | Jengibre                    | Nombour, Australia           |
| UW566          | II       | 2    | 1      | Banano                      | Coatepeque, Guatemala        |
| UW573          | II       | 3    | 2      | Papa                        | Patzicia, Chimaltenango      |
| UW70           | II       | 2    | 1      | Plátano                     | Colombia                     |
| UW129          | II       | 2    | 1      | Plátano                     | Perú                         |
| UW162          | II       | 2    | 1      | Plátano                     | Perú                         |
| UW175          | II       | 2    | 1      | Plátano                     | Colombia                     |
| UW9            | II       | 2    | 1      | Heliconia                   | Costa Rica                   |
| UW551          | II       | 3    | 2      | Geranio                     | Kenya                        |
| JT516          | II       | 3    | 2      | Papa                        | Isla Reunion                 |
| UW276          | II       | 3    | 2      | Papa                        | México                       |
| UW120          | II       | 3    | 2      | Papa                        | Costa Rica                   |
| K60            | II       | 1    | 1      | Tomate                      | Carolina del Norte, E.E.U.U. |
| UW27           | II       | 1    | 1      | Tabaco                      | Florida, E.E.U.U.            |
| Rs116          | II       | 1    | 1      | Hydrangea                   | Florida, E.E.U.U.            |
| UW20           | II       | 2    | 1      | Banano                      | Venezuela                    |
| UW21           | II       | 2    | 1      | Banano                      | Honduras                     |
| CFBP2757       | II       | 1    | 1      | Tomate                      | Isla Martinica               |
| CFBP2958       | II       | 1    | 1      | Tomate                      | Islas Guadalupe              |
| UW469          | II       | 1    | 1      | Papa                        | Brasil                       |
| J25            | III      |      | 2 T    | Papa                        | Kenya                        |
| NCPPB505       | III      |      | 1      | <i>Symphytum sp</i>         | Zimbawe                      |
| NCPPB283       | III      |      | 1      | <i>Solanum panduraforme</i> | Zimbawe                      |
| NCPPB332       | III      |      | 1      | Papa                        | Zimbawe                      |
| JT525          | III      |      | 1      | <i>Pelargonium asperum</i>  | Isla Reunion                 |
| JT528          | III      |      | 1      | Papa                        | Isla Reunion                 |
| UW386          | III      | 1    |        | Tomate                      | Nigeria                      |
| CPBP3059       | III      |      | 1      | Berenjena                   | Burkina Faso                 |
| UW443          | IV       |      |        | Banana                      | Indonesia                    |
| MAFF301558     | IV       |      | 2 T    | Papa                        | Japon                        |
| R28            | IV       | ¿    | ¿      | <i>Syzygium aromaticum</i>  | Indonesia                    |
| R230           | IV       |      |        | Musa sp.                    | Indonesia                    |
| R784           | IV       |      | 2      | Papa                        | Indonesia                    |
| ICMP           | IV       |      | 1      | <i>Syzygium aromaticum</i>  | Indonesia                    |

Agradecimientos: Los autores expresan su agradecimiento al CONCYT, Guatemala, y al USDA, por el financiamiento de la presente investigación.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Buddenhagen, I. y Kelman, A. 1964. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2:203-229.
2. Danial, J., McHugh, R. C. y Saddler, G. S. 2006. Molecular characterization of the potato brown rot pathogen *Ralstonia solanacearum*, race3 biovar 2. *Proceedings of the 4<sup>th</sup> International Bacterial Wilt Symposium*. York, U. K.
3. Denny, T. P., y Hayward, A. C. 2001. *Ralstonia solanacearum*. Pages 151-174 in: *Laboratory Guides for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. N.W. Schaad, J. B. Jones, and W. Chun. Eds. 3rd Edition. American Phytopathological Society, St. Paul.
4. Elphinstone, J. G., Standfor, H. M. y Stead, D. E. 1998. Detection of *Ralstonia solanacearum* in potato tubers, *solanum dulcamara* and associated irrigation water. En: Prior, P., Allen, C. y Elphinstone, J. (Eds) *Bacterial wilt disease: molecular and ecological aspects*. Berlin: *springer Press*.
5. Elphinstone J.G. 2005. The current bacterial wilt situation: a global overview. Pages 9-28 in: *Bacterial Wilt: The Disease and the Ralstonia solanacearum Species Complex*. C. Allen, P. Prior, y A.C. Hayward, eds. American Phytopathological Society. St. Paul.
6. Farag, N., Stead, D. E., y Janse, J. D. 1999. *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* race 3, biovar 2 detected in surface irrigation water in Egypt. *Journal of Phytopathology*, 147, 485-487.
7. Fegan. M. Holoway, G., Hayward, A. C., y Timmis, J. 1998. Development of a diagnostic test based on the polymerase chain reaction to identify strains of *R. solanacearum* exhibiting the biovar 2 genotype. Pages 34-43 in: *Bacterial Wilt Disease: Molecular and Ecological Aspects*. P. Prior, C. Allen, and J. Elphinstone, eds. *Springer-Verlag, Berlin*.
8. Fegan, M., and Prior, P. 2005. How complex is the *Ralstonia solanacearum* species complex? Pages 449-461 in: *Bacterial Wilt: the Disease and the Ralstonia solanacearum Species Complex*. C. Allen, P. Prior y A. C. Hayward, eds. American Phytopathological Society, St. Paul.
9. Granada, G. A. y Sequeira, L. 1983. Survival of *Pseudomonas solanacearum* in soil rhizosphere, and plant roots. *Canadian Journal of Microbiology* 29, 433-440.
10. Hanson, P. M., Wang, J-F., Licardo, O., Hanudin, S. Y., Hartman G. L. and Lin, Y. C. 1996. Variable reaction of tomato lines of bacterial wilt evaluated at several locations in Southeast Asia. *HortScience*, 31, 143-146.
11. Hayward, A. C. 1964. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *J. Appl. Bacteriol.* 27:265-277.
12. Hayward, A. C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 29:65-87.
13. Kelman, A. 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. A literature review and bibliography. North Carolina Agricultural Experiment Station Technical Bulletin 99, 1-194.

14. Kim, S. H., y Olson, T. N. 2003. *Ralstonia solanacearum* race 3, biovar 2, the causal agent of brown rot of potato, identified in geraniums in Pennsylvania, Delaware, and Connecticut. *Plant Dis.* 87:450.
15. Lambert, C. D. 2002. Agricultural Bioterrorism Protection Act of 2002: Possession, Use and Transfer of Biological Agents and Toxins; Interim and Final Rule. (7 CFR 331) *Federal Register* 67:76908-76938.
16. Opina, N., Tavner, F., Hollway, G., Wang, J.-F., Li, T.-H., Maghirang, R., Fegan, M., Hayward, A.C., Krishnapillai, V., Hong, W. F. Holloway, B. W., y Timmis, J. 1997. A novel method for development of species and strains-specific DNA probes and PCR primers for identifying *Burkholderia solanacearum* (formerly *Pseudomonas solanacearum*). *Asia Pacific J. Mol. Biol. Biotech.* 5:19-30.
17. Poussier, S., Prior, P., Luisetti, J., Hayward, A. C. y Fegan, M. 2000. Partial sequencing of the hrp and endoglucanase genes confirms and expands the known diversity within the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Syst. And Appl. Microbiol.* 23:479-486.
18. Sequeira, L., and Averre, C.W. 1961. Distribution and Pathogenicity of Strains of *Pseudomonas solanacearum* from virgin soils in Costa Rica. *Plant Disease Reporter.* 45:435-440.
19. Wang, J-F., Chen, N. C. y Barnes, J. A. 1998. Worldwide evaluation of an international set of resistance source to bacterial wilt in tomato. In: P. Prior, C. Allen, C and Elphinstone, J. (Eds.) *Bacterial Wilt, Molecular and Ecological Aspects*. Berlin: Springer Press.
20. Weller, S.A., Elphinstone, J. G Smith, N.C., Boonham, N., Stead, D. 2000. Detection of *Ralstonia solanacearum* strains with quantitative, multiplex, real-time fluorescent PCR (TaqMan) assay. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:2853-2858.
21. Willianson, L., Hudelson, B. D., y Allen, C. 2002. *Ralstonia solanacearum* strains isolated from geranium belong to Race 3 and are pathogenic on potato. *Plant Dis.* 86:987-991.

---

\* Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.  
 \*\* Department of Plant Pathology, University of Wisconsin-Madison0

# ADSORCIÓN, DISIPACIÓN Y MOVIMIENTO DE SIMAZINA EN EL SUELO DE UN VIÑEDO DEL VALLE DE CASABLANCA, CHILE

*Ramiro Arnoldo López Pineda\**

Departamento de Ciencias Vegetales, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal  
Pontificia Universidad Católica de Chile,  
Casilla 306-22, Santiago, Chile.



## RESUMEN

Se evaluó la adsorción, disipación y movimiento de simazina en el suelo arenoso (74.08% arena; 14.87% limo y 11.04% arcilla) de un viñedo de Casablanca, Chile. El  $K_d$  para simazina varió entre 1.54 y 2.01 a través del perfil del suelo. La disipación fue evaluada en el campo, sometiendo el herbicida a dos regímenes pluviométricos: a) condiciones naturales (39 mm de lluvia) y b) lluvia + adición de 180 mm de agua (30 mm cada 15 días) desde agosto 20 a noviembre 11 del 2003. La simazina fue aplicada a la superficie del suelo en dosis de 2.0 kg ia . ha<sup>-1</sup> y su concentración fue determinada a los 0 (día de la aplicación), 10, 20, 40 y 90 DDA usando inmunoensayo específico. Los datos de disipación fueron ajustados a tres modelos de regresión no lineales: a) cinética de primer orden (Pseudo- $r^2 = 0.84$  y 0.89), b) decrecimiento exponencial (Pseudo- $r^2 = 0.93$  y 0.97) y c) Gaussiano (Pseudo- $r^2 = 0.95$  y 0.97). La  $TD_{50}$  de simazina fue de 27 - 35 días bajo condiciones naturales, con una disminución significativa ( $P < 0.01$ ) a entre 15 - 16 días cuando se adicionaron lluvias simuladas después de la aplicación. Se detectó simazina hasta 90 cm de profundidad, 90 DDA bajo ambas condiciones con un nivel mínimo de de-

tección de  $0.03 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Los resultados obtenidos a partir del estudio con lisímetros no disturbados, indican que en condiciones naturales solo  $0.2 \text{ g}$  de simazina  $\cdot \text{ha}^{-1}$  lixiviaron a profundidades por debajo de  $90 \text{ cm}$  en el perfil del suelo.

**PALABRAS CLAVE:** simazina, adsorción, disipación,  $K_d$ ,  $TD_{50}$ , inmunoensayo.

## 1. INTRODUCCIÓN

Simazina (6-cloro-*N,N'*-diethyl-1,3,5-triazina-2,4-diamina) es un herbicida suelo activo utilizado para el control de malezas anuales, principalmente dicotiledóneas de invierno en las plantaciones de uva vinífera y en general en especies frutales en Chile y el mundo. Sin embargo, contaminación de agua subterránea, debida a la aplicación de herbicidas en la viticultura, ha sido documentada en Estados Unidos, en el valle de San Joaquín, por el Departamento de Agricultura de California, a partir de 1995, detectando simazina en el 30 % de los pozos muestreados en los condados de Fresno y Tulare (Troiano *et al.*, 1994). Por tal razón su uso ha disminuído en los últimos años y el herbicida está siendo cuestionado para la producción agrícola. Este hecho ha aumentando la sensibilidad de los consumidores, principalmente en Estados Unidos y la Comunidad Europea respecto al impacto ambiental de los herbicidas.

Los distintos procesos a que están sujetos los herbicidas en el suelo están influenciados por factores como las propiedades del suelo, el manejo del mismo, método de aplicación, topografía del terreno, cultivo y las condiciones climáticas (Ying y Williams, 2000). Dentro de los procesos relacionados con la disipación de los mismos se encuentran la degradación, absorción por las plantas, lixiviación hacia aguas subterráneas y escorrentía en aguas superficiales. Los objetivos del presente trabajo fueron estudiar a) adsorción, b) disipación y c) movimiento de simazina dentro de los  $90 \text{ cm}$  superiores del perfil, en el suelo de una viña del valle de Casablanca, Chile; bajo dos condiciones pluviométricas: condiciones na-

turales (39 mm de lluvia) y aplicando lluvias simuladas de 30 mm cada 15 días (180 mm) desde el 20 de agosto al 11 de noviembre del 2003.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1 Elección del área de estudio**

El presente estudio fue realizado en un viñedo del Fundo Lo Ovalle (Latitud 33°16'S y Longitud 71°23'W), ubicado en Casablanca, V Región, Chile; perteneciente a Viña Concha y Toro S. A. Las temperaturas promedio registradas en la localidad fueron: máxima 25° C y mínima 14° C. La precipitación pluvial registrada durante el año 2003 fue de 450 mm. El suelo del área experimental pertenece a la serie Las Rosas (CIREN, 1985) y al orden Inceptisol, de acuerdo al sistema de clasificación taxonómica del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Soil Survey Staff, 1999).

### **2.2 Determinación de las propiedades físico-químicas del suelo**

Se realizó un muestreo en grilla a una densidad de 15 muestras . ha<sup>-1</sup>. Se muestrearon 20 puntos dentro del área de estudio, estos fueron georeferenciados con un DGPS Trimble modelo AGPS 114, en cuatro estratos (0-15; 15-30; 30-60 y 60-90 cm) dentro del perfil del suelo. Las 80 muestras obtenidas se analizaron en el Laboratorio de Investigación del Departamento de Ciencias Vegetales (LIDCV) de la Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Chile. La textura fue determinada utilizando el método del Hidrómetro de Bouyucos (Bouyucos, 1962; Gee y Bauder, 1979). El pH de las muestras se determinó en suspensión 1:2.5 (suelo:agua deionizada). La materia orgánica se determinó por el método de combustión húmeda y determinación colorimétrica del cromato reducido (Sadzawka *et al.*, 2000). La capacidad de intercambio catiónico efectiva (CICE) fue determinada con el método de extracción del CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> (acetato de amonio) 1M, a pH 7,0 (Sadzawka *et al.*, 2000), y cuantificados con un espectrómetro de emisión atómica de plasma Varian Liberty ICP-OES. Una síntesis de las características de suelo se presenta en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Características físico-químicas del suelo (0 - 90 cm) en el área experimental<sup>1</sup>.

| Estrato (cm) | pH          | Arena (%)    | Limo (%)     | Arcilla (%)  | CIC Efectiva (meq .100 g <sup>-1</sup> ) | MO (%)      |
|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--|-------------|
| 0 - 15       | 6.02 ± 0.20 | 72.29 ± 3.00 | 17.64 ± 2.83 | 10.06 ± 1.82 | 14.33 ± 2.80                             | 2.09 ± 0.55 |
| 15 - 30      | 5.97 ± 0.20 | 72.12 ± 4.44 | 16.60 ± 3.21 | 11.27 ± 1.86 | 13.44 ± 4.39                             | 1.12 ± 0.42 |
| 30 - 60      | 6.22 ± 0.31 | 75.19 ± 4.05 | 13.68 ± 3.80 | 11.12 ± 2.82 | 1.53 ± 0.30                              | 0.91 ± 0.24 |
| 60 - 90      | 6.50 ± 0.28 | 76.71 ± 4.29 | 11.56 ± 3.19 | 11.72 ± 2.26 | 1.67 ± 0.54                              | 0.56 ± 0.25 |

<sup>1</sup>Promedio ± Desviación Estándar

## 2.3 ESTUDIO DE ADSORCIÓN DE SIMAZINA

### 2.3.1 Recolección y análisis del suelo

Se colectaron muestras de las cuatro zonas homogéneas determinadas previamente, en seis estratos de 15 cm hasta 90 cm de profundidad, dentro del perfil del suelo. Las muestras fueron secadas al aire y homogenizadas al pasar un tamiz de 2 mm. Cada muestra fue sometida a analítica, para determinar sus características físico – químicas, utilizando la metodología anteriormente descrita.

### 2.3.2 Determinación de los coeficientes de adsorción en el perfil del suelo

La determinación del coeficiente de adsorción en equilibrio fue realizada en duplicado. Se pesaron 5 g de suelo y se agregaron 10 mL de una solución de simazina de 200 mg . kg<sup>-1</sup> disuelta en CaCl<sub>2</sub> 0,1 M. Los recipientes fueron tapados y agitados durante 24 hr en un agitador orbital a una temperatura ambiente de 25 ± 2 ° C. El sobrenadante fue separado y centrifugado a 3500 rpm durante 15 min. La concentración de simazina en la solución sobrenadante fue determinada a través de inmunoensayo con un límite de detección de 0.03 mg de simazina . kg<sup>-1</sup> de suelo, utilizando el espectrofotómetro RPA-1Ô (Strategic Diagnostics Inc., 1997). El herbicida adsorbido correspondió a la diferencia entre la concentración inicial de la solución y la concentración remanente luego de alcanzar

el equilibrio con el suelo, expresado en la ecuación de Freundlich (Calvet, 1980) asumiendo un factor de linealidad  $n = 1$ :

$$C_s = K_d C_e \quad [1]$$

donde  $C_s$  ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) es la cantidad de herbicida adsorbido a la concentración de equilibrio,  $C_e$  ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) del sistema sorbato-sorbente. Se determinó la correlación entre el  $K_d$  de simazina y algunas características físico - químicas del suelo (pH, % CO y % de Arcilla). Además se realizó una prueba de F para determinar diferencias de adsorción para cada estrato dentro del perfil del suelo. El análisis estadístico de los datos fue realizado utilizando los procedimientos PROC ANOVA y PROC CORR del programa SAS (SAS Institute, 2000).

## 2.4 ESTUDIO DE DISIPACIÓN A NIVEL DE CAMPO

### 2.4.1 Establecimiento de las unidades experimentales

El experimento fue establecido con un diseño de bloques completos al azar que correspondieron a cuatro zonas homogéneas determinadas por análisis cluster de las características físico-químicas del suelo. En cada bloque se establecieron dos parcelas de  $3 \text{ m}^2$  ( $3 \times 1 \text{ m}$ ), se removió la cubierta vegetal, para facilitar que la simazina llegara al suelo y poder estudiar su disipación y movimiento dentro del perfil de suelo. Una de las parcelas fue sometida a condiciones de humedad natural (CN) y otra a condiciones de riego adicional (RA) aplicando seis lluvias simuladas de 30 mm cada 15 días (180 mm adicionales).

### 2.4.2 Aplicación de herbicida

La simazina se aplicó el 20 de agosto del 2003 ( $2.0 \text{ kg ia} \cdot \text{ha}^{-1}$ ), utilizando una bomba de espalda equipada con regulador de presión y boquilla anti-deriva. El volumen de mezcla aplicado fue de  $192.5 \text{ L} \cdot \text{ha}^{-1}$ . Se colectó una muestra de suelo en cada unidad experimental para determinar la uniformidad de la aplicación y cuantificar la concentración de simazina al tiempo cero ( $C_0$ ) en las unidades experimentales. Posterior al muestreo

se aplicó la primera lluvia simulada de 30 mm a las parcelas sometidas a condiciones de riego adicional (RA).

### **2.4.3 Muestreos para la evaluación de la disipación de simazina en campo**

Se extrajeron muestras de suelo de las parcelas experimentales, utilizando cilindros de acero de 5 cm de diámetro y 15 cm de largo, introducidos en el suelo de forma manual utilizando un martillo. Se realizaron seis muestreos en el tiempo. El primero antes de la aplicación del herbicida (12 de agosto del 2003) para determinar la cantidad de simazina remanente de la aplicación de la temporada anterior (2002), y luego a los 0, 10, 20, 40 y 90 días después de la aplicación del herbicida (DDA). El muestreo 0 DDA se realizó en los primeros 15 cm del perfil del suelo. Las muestras de suelo obtenidas fueron colocadas dentro de bolsas plásticas en un recipiente térmico aislante para transportarlas al laboratorio, donde fueron almacenadas en un congelador a  $-18^{\circ}$  Celsius, hasta el análisis y cuantificación de la simazina. Según Puchalski *et al.* (1999), muestras de suelo con EPTC, atrazina, alaclor, dicamba, 2,4-D conservaron la misma concentración de herbicida durante al menos 450 días al ser almacenadas a  $-15^{\circ}$  C.

### **2.4.4 Extracción de simazina de las muestras de suelo**

Para extraer la simazina de las muestras de suelo, se utilizó la metodología descrita por Goh *et al.* (1990, 1991, 1992a, 1992b y 1993). Una muestra de 25 g de suelo húmedo fue mezclada con 50 ml de metanol grado analítico al 40% v / v, y agitadas en un agitador orbital durante 10 minutos. Luego se dejó decantar durante 10 minutos y se extrajo el sobrenadante, repitiendo la extracción con metanol sobre el suelo decantado. Ambos extractos fueron combinados y centrifugados durante 10 minutos a 4000 rpm, para luego filtrar con papel filtro Advantec MFS No. 131. Para verificar la eficiencia del método de extracción (recuperación) se tomaron dos muestras de 25 g suelo

Casablanca, las cuales fueron fortificadas con dosis conocidas de 1.0 y 2.0 kg . ha<sup>-1</sup> de simazina (0.355 y 0.71 mg . kg<sup>-1</sup>) y sometidas al mismo método analítico.

#### 2.4.5 Cuantificación de simazina

El contenido de simazina en las muestras de suelo fue determinado a través de inmunoensayo (ELISA), con un límite mínimo de detección (LMD) de 0.03 mg de simazina . kg<sup>-1</sup> de suelo. Dicho método ha sido también utilizado para la detección cuantitativa, semi-cuantitativa o cualitativa, de simazina en agua subterránea, agua superficial y agua de pozos (Strategic Diagnostics Inc., 1997).

#### 2.4.6 Análisis Estadístico de la disipación de simazina

La disipación del herbicida simazina en cada una de las parcelas, fue ajustada al modelo de cinética de primer orden (Hurle y Walker, 1980) utilizando análisis de regresión no lineal y la rutina PROC NLIN del programa SAS (SAS Institute, 2000). Este ajuste asume que la disipación corresponde a un proceso con cinética de primer orden (Hurle y Walker, 1980; Zimdahl *et al.*, 1994), definida por:

$$C = C_0 e^{-kt} \quad [2]$$

donde  $C$  es la cantidad de herbicida en el suelo a un tiempo  $t$ ;  $C_0$  es la cantidad de herbicida en el suelo cuando  $t = 0$ , y  $k$  es la tasa de disipación constante. El tiempo requerido para la concentración de un herbicida disminuya a la mitad de la cantidad inicial en el suelo es denominada vida media ( $TD_{50}$ ). Para un modelo de disipación de primer orden, esta es definida por la siguiente fórmula:

$$TD_{50} = 0,693/k \quad [3]$$

## 2.5 ESTUDIO DE MOVIMIENTO A TRAVÉS DEL PERFIL DEL SUELO

Para los muestreos realizados a 10, 20 y 40 DDA se tomaron muestras de los estratos de 0-15 y 15-30 cm. A los 90 DDA, se muestrearon seis estratos: 0-15, 15-30, 30-45, 45-60, 60-75 y 75-90 cm de profundidad. Las muestras fueron colectadas, almacenadas siguiendo el mismo procedimiento descrito para el estudio de disipación. La extracción y cuantificación de simazina en las muestras fue realizada a través del inmunoensayo ya descrito. La concentración de simazina detectada en los seis estratos del perfil del suelo para cada parcela experimental fue analizada estadísticamente utilizando la prueba *t* de *Student*, con la rutina PROC TTEST de SAS. Adicionalmente se estableció un experimento en condiciones controladas, utilizando lisímetros de suelo sin disturbar, colectando cuatro columnas por zona homogénea delimitada (16 en total) dentro del campo experimental. Dichas columnas (20 cm de diámetro y 120 cm de longitud) fueron instaladas en un invernadero, donde se aplicó 6.46 mg de simazina disuelta en agua (equivalente a 2.0 kg ia . ha<sup>-1</sup>); con una pipeta de precisión, el día 22 de agosto del 2003. Al igual que en el campo se establecieron los tratamientos en condiciones pluviométricas naturales (equivalentes a las ocurridas en el área experimental) y las otras con lluvia simulada adicional, tal como se describió anteriormente para los estudios de campo. Los lixiviados de cada columna fueron colectados semanalmente y se les determinó el contenido de simazina a través del inmunoensayo descrito anteriormente. Los resultados fueron analizados estadísticamente de forma similar a los resultados del experimento de disipación en campo.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Adsorción de simazina

El coeficiente de adsorción ( $K_d$ ) fue determinado, asumiendo que toda la simazina removida de la solución fue adsorbida por el suelo y que no existió degradación del herbicida durante el tiempo en que fue realizado

el experimento (28 horas). Los resultados indican que el  $K_d$  no varió de forma no significativa ( $P = 0.25$ ) dentro del perfil del suelo (Cuadro 2). Sin embargo, se observó una mayor adsorción en el estrato comprendido entre 45 y 60 cm de profundidad, en los cuales se observó mayor contenido de arcilla respecto a los otros estratos.

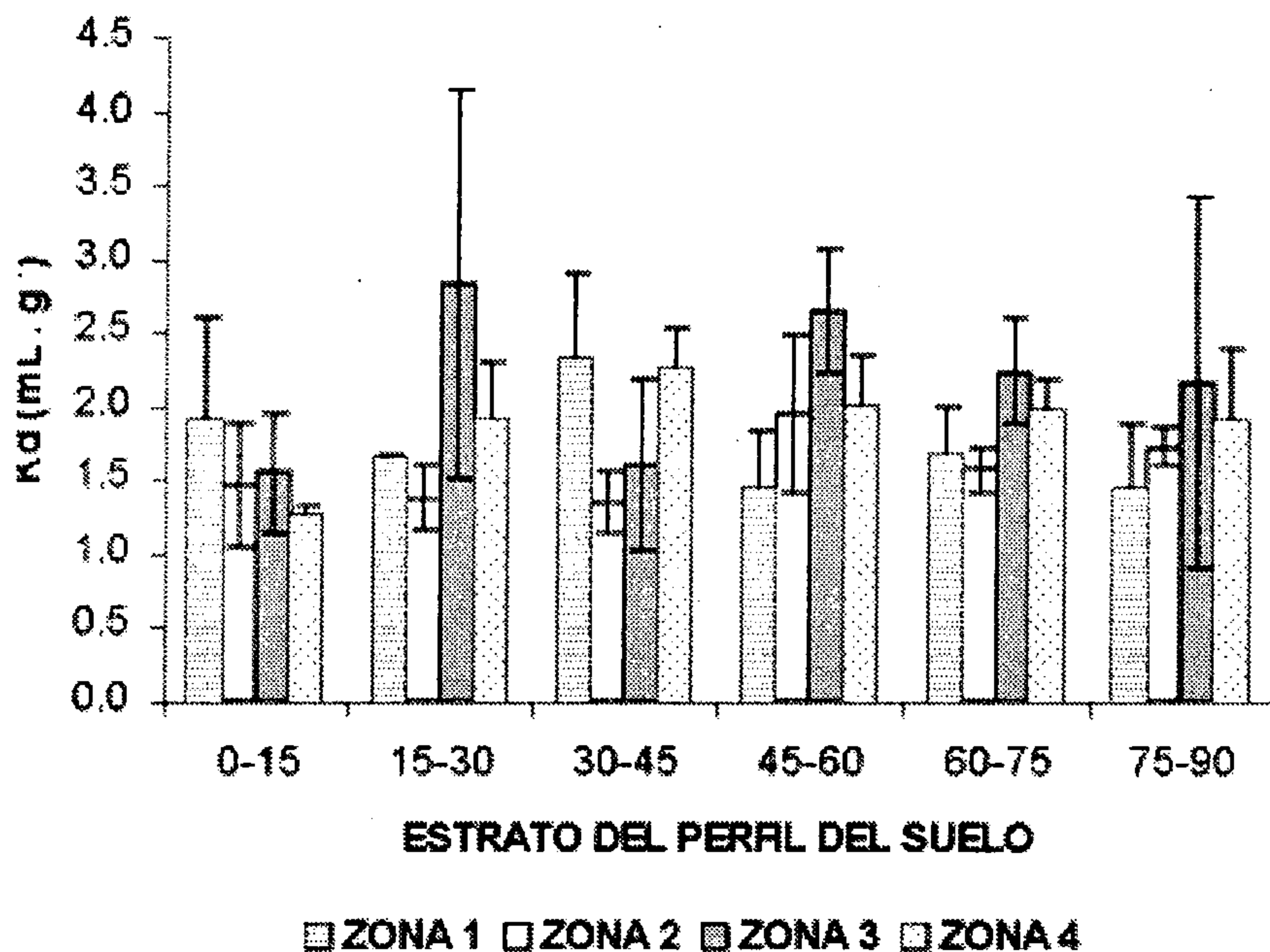
**Cuadro 2.** Constante de adsorción ( $K_d$ ) calculada y características físico - químicas en los seis estratos del perfil del suelo en Casablanca, Chile (promedio de cuatro zonas homogéneas).

| ESTRATO<br>( cm ) | pH                         | C Orgánico<br>(%) | Arcilla<br>(%) | $K_d$<br>( mL . g <sup>-1</sup> ) |
|-------------------|----------------------------|-------------------|----------------|-----------------------------------|
| 0-15              | 6.12 ± 0.23 b <sup>1</sup> | 1.30 ± 0.19 a     | 13.23 ± 0.97 a | 1.54 ± 0.27 a                     |
| 15-30             | 6.08 ± 0.32 b              | 0.48 ± 0.12 b     | 13.81 ± 0.50 a | 1.94 ± 0.63 a                     |
| 30-45             | 6.42 ± 0.23 ab             | 0.45 ± 0.16 c     | 13.90 ± 0.64 a | 1.88 ± 0.48 a                     |
| 45-60             | 6.67 ± 0.18 a              | 0.29 ± 0.03 c     | 13.40 ± 1.51 a | 2.01 ± 0.49 a                     |
| 60-75             | 6.71 ± 0.23 a              | 0.25 ± 0.07 c     | 14.24 ± 1.04 a | 1.86 ± 0.30 a                     |
| 75-90             | 6.87 ± 0.39 a              | 0.22 ± 0.10 c     | 13.99 ± 1.97 a | 1.81 ± 0.31 a                     |

<sup>1</sup> Promedios entre columnas con la misma letra son estadísticamente iguales a  $P = 0,05$ .

No se observó correlación significativa ( $P > 0.20$ ) entre los valores de  $K_d$ , con las variables pH, % CO y % Arcilla, medidas en las muestras de suelo. En general, la adsorción no se encuentra correlacionada con el contenido de arcilla, excepto para las moléculas catiónicas. Esto es debido, parcialmente, a que la definición de la fracción de arcilla no toma en cuenta la naturaleza química de las superficies, por ejemplo los hidróxidos asociados con la arcilla, juegan un rol importante en la adsorción pero no son tomados en cuenta al momento de evaluar dicha correlación. La mayoría de autores reporta que la adsorción de simazina se incrementa al aumentar el contenido de materia orgánica (Calvet *et al.*, 1980; Celis *et al.*, 1998; ), pues como base débil se protona. Sin embargo la adsorción de los herbicidas puede variar con la naturaleza de la materia orgánica (Dunigan y MacIntosh, 1971; Grover, 1974). Adicionalmente, se determinó que la adsorción ( $K_d$ ) varió entre las cuatro zonas homogé-

neas, sin embargo dicha variación resultó no significativa ( $P = 0.37$ ) en los seis estratos estudiados (Figura 1).



**Figura 1.** Coeficiente de adsorción ( $K_d$ ) para seis estratos del perfil del suelo de las cuatro zonas homogéneas delimitadas.

### 3.2 Disipación de simazina bajo las dos condiciones pluviométricas

Debido a que el área donde se realizó el estudio corresponde a un viñedo, donde se había usado simazina en la temporada anterior para el manejo de malezas, se realizó un muestreo de suelo previo al establecimiento del experimento. Así se pudo detectar simazina dentro del perfil (Cuadro 3). Las concentraciones encontradas correspondieron a un 0.35 – 2.13 % de la simazina aplicada el año anterior ( $2.0 \text{ kg ia} \cdot \text{ha}^{-1}$ ). Tomando en cuenta una densidad aparente de  $1.88 \text{ g} \cdot \text{cm}^3$  (determinada utilizando el método del terrón) y una profundidad de 15 cm; dicha dosis equivale a  $0.709 \text{ mg}$  de simazina  $\cdot \text{kg}^{-1}$  de suelo.

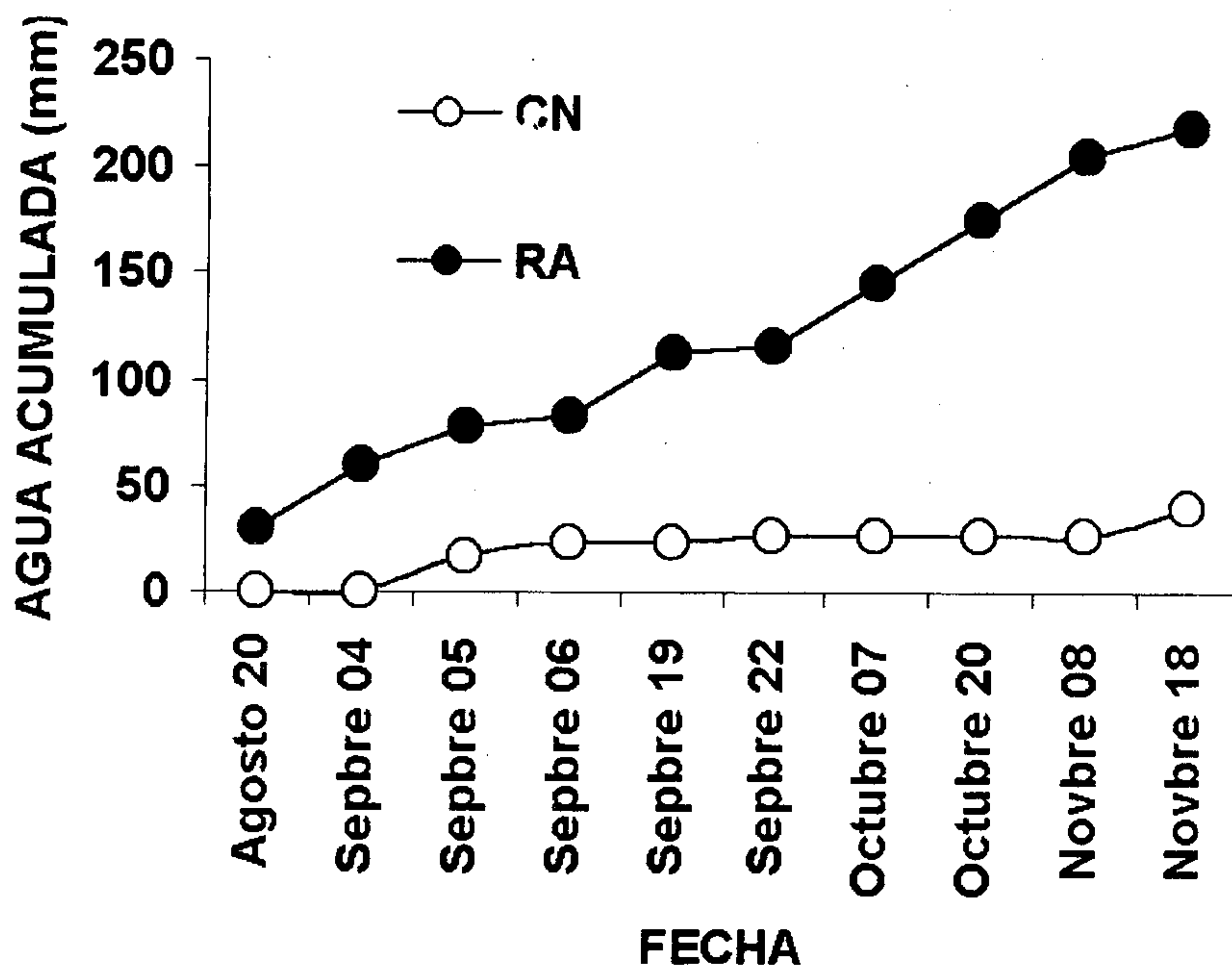
**Cuadro 3.** Simazina residual detectada en el perfil del suelo del área experimental, previo al establecimiento del experimento de campo (28-07-2003).

| ESTRATO<br>( cm ) | SIMAZINA<br>( mg . kg <sup>-1</sup> ) | REMANENTE APLICACIÓN<br>AÑO ANTERIOR ( % ) |
|-------------------|---------------------------------------|--|
| 0 – 15            | 0.002 ± 0.002 <sup>1</sup>            | 0.35                                       |
| 15 – 30           | 0.003 ± 0.004                         | 0.41                                       |
| 30 – 60           | 0.015 ± 0.017                         | 2.13                                       |
| 60 – 90           | 0.014 ± 0.018                         | 2.01                                       |

<sup>1</sup> Promedio ± desviación estándar.

La simazina remanente en el perfil del suelo mostró alta variabilidad, siendo cuatro veces mayor la cantidad encontrada debajo de los 30 cm de profundidad; lo que se podría deber probablemente a condiciones anaeróbicas en la zona vadosa, donde la temperatura y actividad microbológica serían menores. Esto hace que la persistencia de residuos de simazina sea prolongada (Kookana *et al.*, 1995), coincidiendo en este caso con la profundidad donde la napa de agua osciló en el transcurso del año (0.6 – 2.3 m) dentro del área de estudio. A pesar que las cantidades de simazina encontradas fueron insignificantes, se les pudo cuantificar debido al bajo LMD (0.03 mg . L<sup>-1</sup>) del inmunoensayo utilizado. Estas concentraciones residuales de simazina fueron sustraídas en todos los resultados experimentales de esta investigación.

El agua acumulada recibida por las parcelas experimentales sometidas a condiciones naturales ascendió a un total acumulado de 39 mm de lluvia desde el 20 de agosto al 11 de noviembre del 2003 (Figura 2). El agua acumulada en las parcelas donde se aplicó las simulaciones de lluvia adicional ascendió a 219 mm (39 mm de lluvia + 180 mm adicionales).



**Figura 2.** Agua acumulada (lluvia y lluvia + riego) en los tratamientos evaluados durante el período experimental (CN = condiciones naturales y RA = riego adicional).

El porcentaje de recuperación de simazina, en las muestras control fortificadas con 0.71 y 0.355 mg de simazina  $\cdot$  kg<sup>-1</sup> de suelo y de las muestras colectadas inmediatamente después de la aplicación, tiempo cero (0 DDA) osciló entre 87 y 104%; lo que es concordante con el trabajo de Goh *et al.*, (1992a y 1992b), quienes recuperaron un 90 a 110 % de la simazina aplicada, utilizando metanol 40% v/v como extractante.

Se ajustaron tres modelos de Regresión No Lineal (Cinética de Primer Orden, Decrecimiento Exponencial y Gaussiano) a la disipación de simazina (Cuadro 4) en la zona correspondiente a los 15 cm superiores del suelo, a partir de los cuales se estimó la TD<sub>50</sub> y la tasa de disipación (*k*).

**Cuadro 4.** Constante de disipación ( $k$ ) y vida media ( $TD_{50}$ ) de simazina en condiciones naturales (CN) y aplicación adicional (RA) de 180 mm de agua.

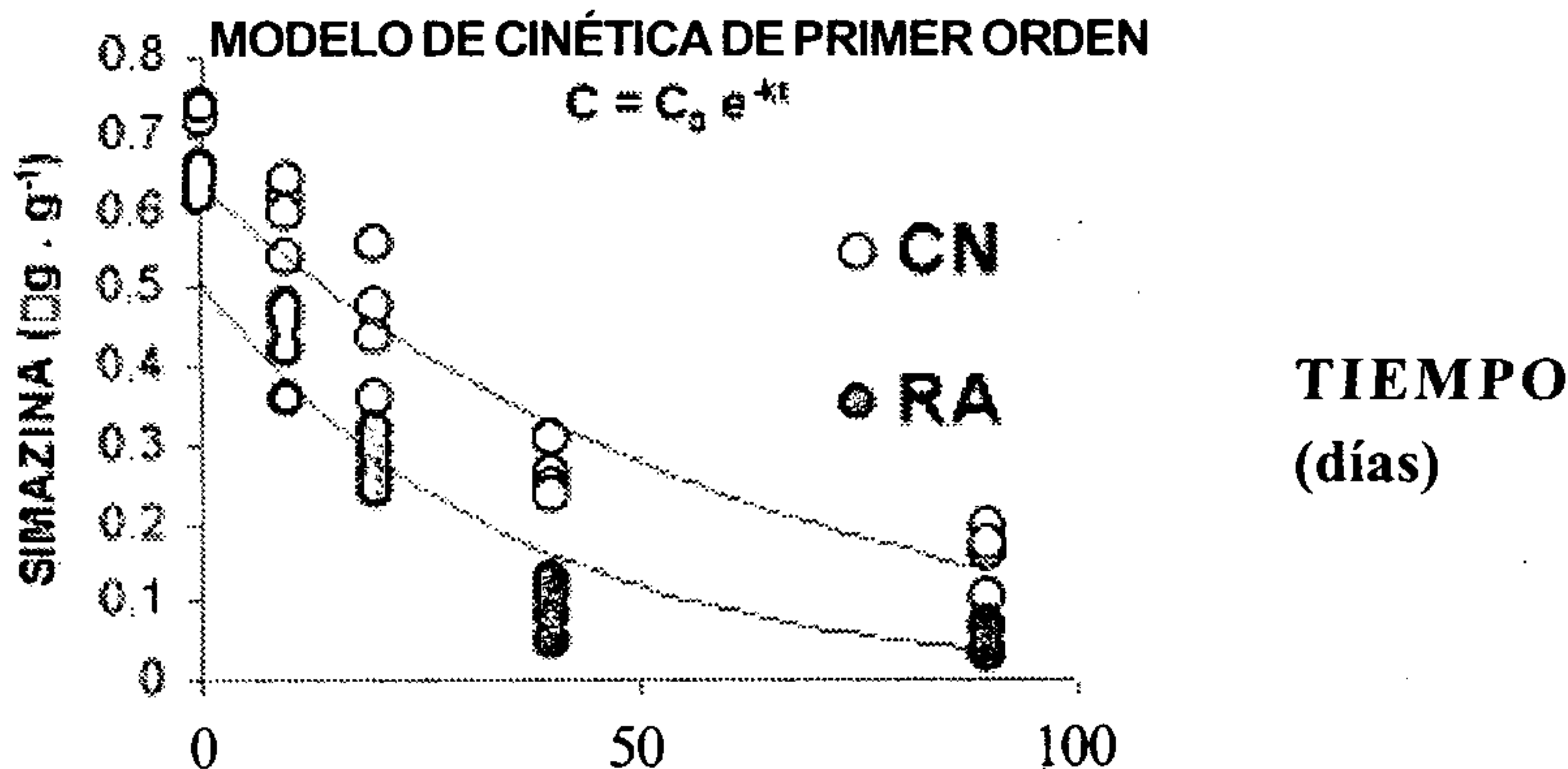
|    | Modelo No Lineal Ajustado |       |                     |                     |       |        |               |       |        |
|----|---------------------------|-------|---------------------|---------------------|-------|--------|---------------|-------|--------|
|    | Cinética de 1er. Orden    |       |                     | Decrec. Exponencial |       |        | Gaussiano     |       |        |
|    | Pseudo- $r^2$             |       |                     | Pseudo- $r^2$       |       |        | Pseudo- $r^2$ |       |        |
|    | $TD_{50}^a$               | $k^b$ | Pr > F <sup>c</sup> | $TD_{50}$           | $k$   | Pr > F | $TD_{50}$     | $k$   | Pr > F |
| CN | 42.31 ± 5.71              | 0.017 | 0.89                | 32.47 ± 3.81        | 0.006 | 0.93   | 31.51 ± 3.36  | 0.005 | 0.95   |
| RA | 24.62 ± 4.14              | 0.029 | 0.84                | 15.91 ± 3.81        | 0.007 | 0.97   | 16.94 ± 3.36  | 0.007 | 0.97   |

<sup>a</sup> Vida Media en días, promedio ± desviación estándar.

<sup>b</sup> Tasa de disipación promedio (mg simazina · g<sup>-1</sup> de suelo · día<sup>-1</sup>).

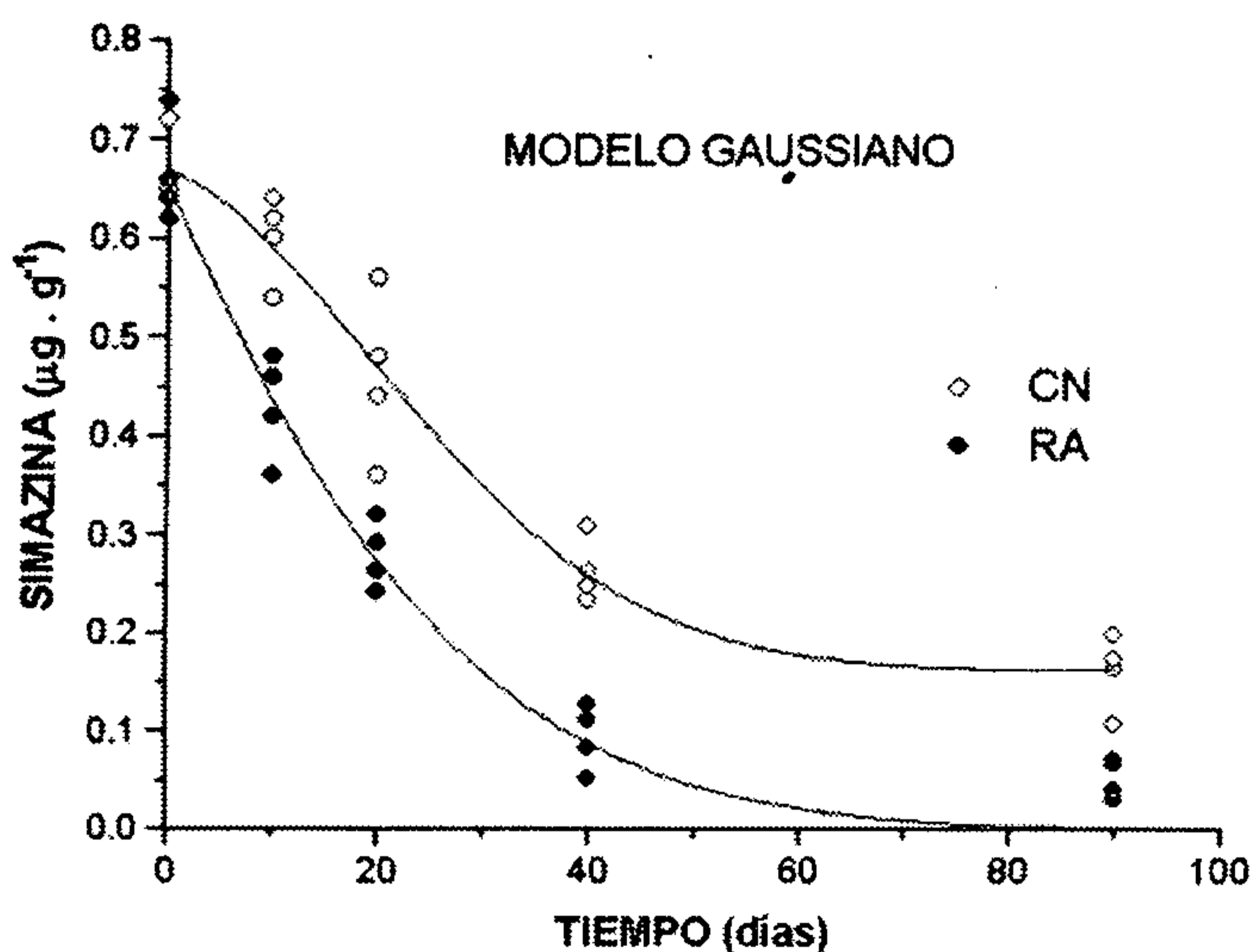
<sup>c</sup> Probabilidad de un mayor valor de F.

El modelo de cinética de primer orden, explica la disipación de simazina en ambas condiciones (Pseudo- $r^2 = 0.89$  y  $0.84$ , respectivamente), dicho modelo ha sido ampliamente utilizado en estudios de degradación bajo condiciones de laboratorio (Zimdahl *et al.*, 1994). A pesar de que aparentemente el grado de ajuste calculado para dicho modelo es bueno (Pseudo- $r^2 > 0.80$ ), puede notarse que la curva descrita, no se ajusta a las concentraciones de simazina determinadas a los 40 DDA, en ambas condiciones (Figura 3). Lo que trae como consecuencia una sobre estimación de los valores de  $TD_{50}$  en el tratamiento CN ( $42.31 \pm 5.71$  días) y RA ( $24.62 \pm 4.14$  días). A pesar de ello, este modelo es utilizado principalmente por tres razones: a) se asume que es correcta, b) su ajuste matemático es relativamente simple y c) generalmente se ajusta de forma adecuada (Zimdahl *et al.*, 1994).



**Figura 3.** Disipación de simazina bajo dos condiciones pluviométricas, en los 15 cm superiores en el suelo de un viñedo de Casablanca, Chile; ajustada al modelo de cinética de primer orden.

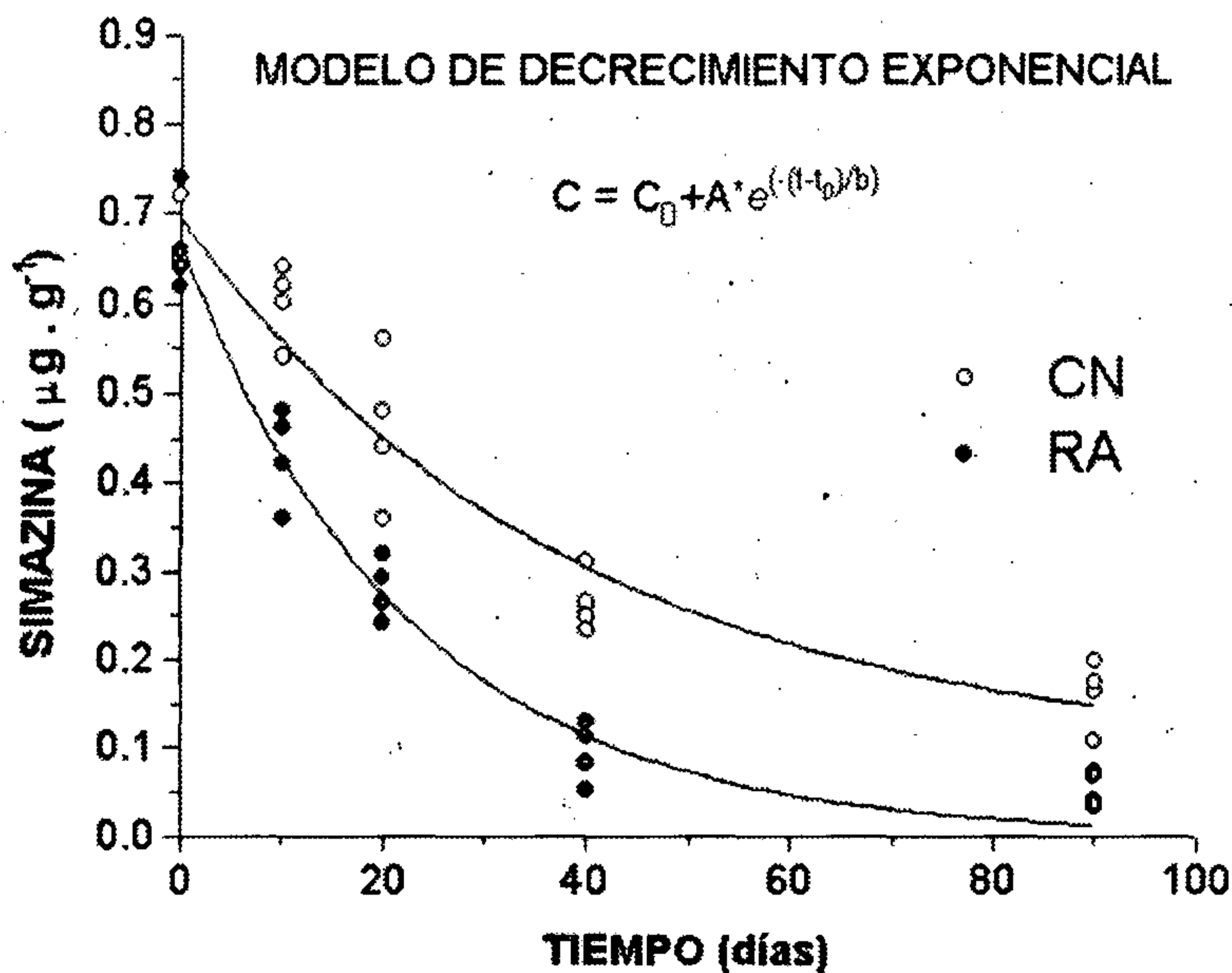
Por otra parte el modelo Gaussiano describió de mejor forma la disipación del herbicida simazina ( $\text{Pseudo-}r^2 = 0.97$ ) bajo condiciones naturales de Casablanca (Figura 4) a partir del cual puede estimarse de forma más precisa la  $\text{TD}_{50}$  de simazina ( $31.51 \pm 3.36$  días) bajo dichas condiciones pluviométricas. Sin embargo para las condiciones RA dicho modelo subestima la concentración de herbicida después de 40 días de la aplicación. La disipación de simazina en condiciones de riego adicional no se ajustó adecuadamente, ya que estima una disipación total de la simazina a los 80 DDA, detectando en campo  $0.05 \text{ mg}$  de simazina  $\cdot \text{g}^{-1}$  de suelo.



**Figura 4.** Ajuste del modelo Gaussiano a la disipación en campo de simazina sometida a condiciones pluviométricas naturales y con 180 mm de agua adicional en un viñedo del valle de Casablanca, Chile.

El modelo de Decrecimiento Exponencial (Figura 5) presentó un mejor ajuste a la curva de disipación descrita para simazina ( $\text{Pseudo-}r^2 = 0.97$ )

bajo las condiciones de riego adicional (RA), sin embargo al igual que el modelo Gaussiano, mostró la tendencia a subestimar la concentración después de los 40 días. La tasa de disipación ( $k$ ) calculada para cada condición pluviométrica, registró diferencias significativas ( $P < 0.01$ ) entre los tratamientos evaluados. Esto tuvo como consecuencia diferencias en la vida media de simazina, registrándose menor vida media en el tratamiento RA ( $TD_{50} = 15.91 \pm 0.35$  días) al compararlo con el tratamiento CN ( $TD_{50} = 32.47 \pm 3.81$  días).

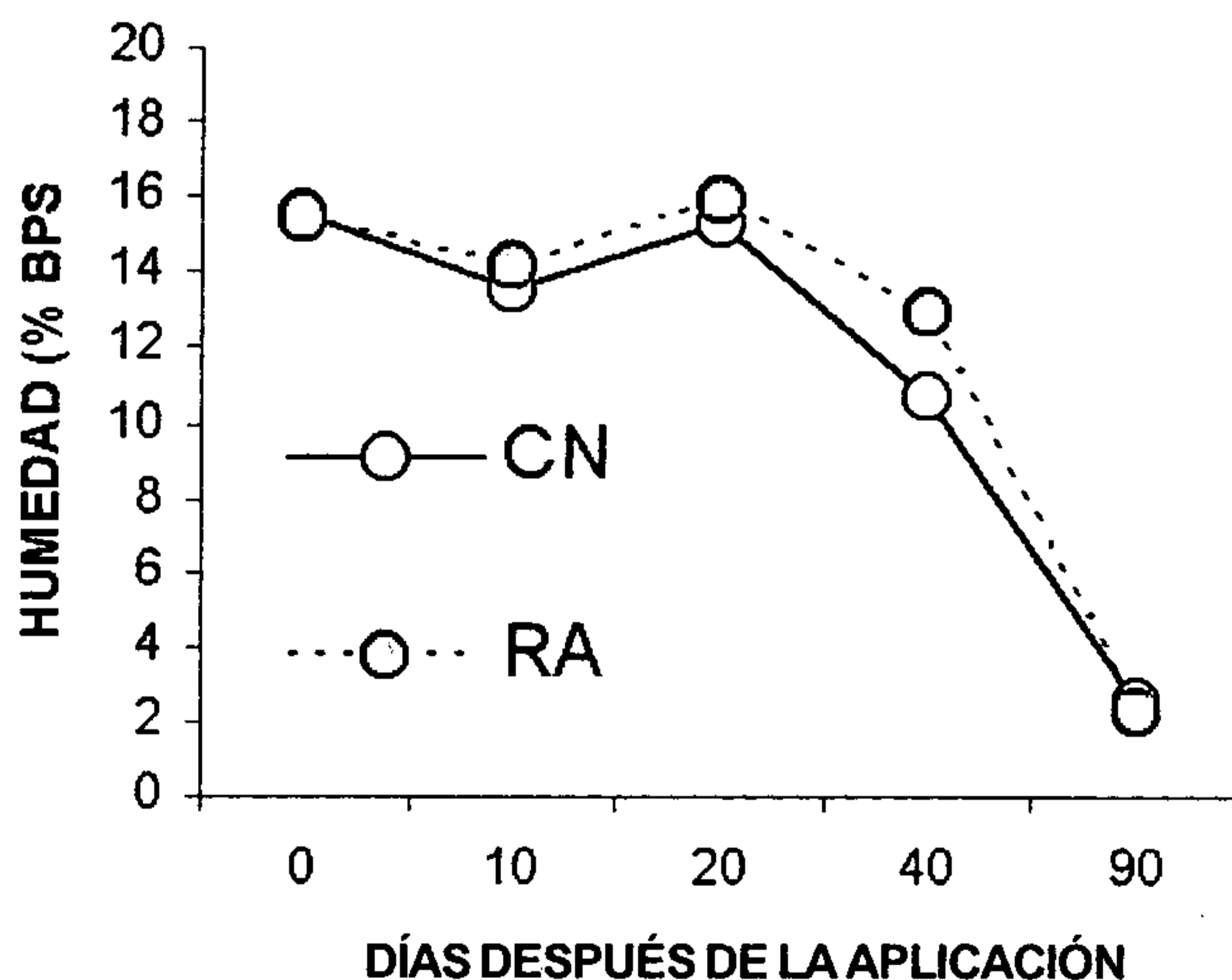


**Figura 5.** Ajuste del modelo de Decrecimiento Exponencial a la disipación de simazina observada a nivel de campo bajo dos condiciones pluviométricas en el suelo arenoso de un viñedo del valle de Casablanca, Chile.

Los resultados anteriores confirman lo postulado por Hamaker (1966); quien aseveró que el modelo elegido para describir la tasa de disipación explicaría las diferencias obtenidas en el cálculo de la  $TD_{50}$  de un herbicida. Los datos que se encuentran en la literatura son variables, así Liu y Prather (2000); estimaron  $TD_{50}$  de 39 días en el campo para simazina, utilizando el modelo de cinética de primer orden con un  $r^2 = 0.88$ . Traba-

jos previos citados por los mismos autores mostraron valores de  $TD_{50}$  para simazina que variaban desde 56 (Troiano y Garretson, 1988) hasta 64 días (Rao y Davidson, 1980).

Las diferencias observadas para las tasas de disipación ( $k$ ) y vida media ( $TD_{50}$ ) de simazina bajo las condiciones pluviométricas a que fue sometida la simazina en el presente estudio, podrían ser explicadas por las diferencias de humedad del suelo, sin embargo al estudiar la misma, se determinó que a pesar de la cantidad adicional de agua, la humedad en los 15 cm superiores fue similar (Figura 6), aunque existe evidencia que la tasa de degradación se incrementa en función del contenido de agua en el suelo, debido posiblemente a un incremento en la actividad biológica dentro del mismo (Hurle y Walker, 1980). Dentro de las bacterias que pueden degradar las molécula de simazina y otras triazinas a partir de declorinación mediada por enzimas como la s-triazina hidrolasa se encuentran *Rhizobium* sp., *Rhodococcus corallinus* y *Pseudomonas* sp. (Bouquard *et al.*, 1997).



**Figura 6.** Humedad del suelo en base peso seco (%BPS) 0-15 cm bajo la condición natural (CN) 37 mm de lluvia y con riego adicional de 180 mm de agua (RA) en Casablanca, Chile.

Junto a la degradación microbiológica diferencial que podría haber ocurrido, dichas diferencias podrían deberse a movimiento del herbicida dentro del perfil del suelo (movimiento preferencial), a consecuencia de las lluvias simuladas de 30 mm cada 15 días (RA).

### 3.3 Relación entre la vida media de simazina y algunas características del suelo

Las propiedades físico – químicas determinadas para cada zona homogénea delimitada dentro del experimento, fueron relacionadas con la vida media calculada a partir del modelo que mejor ajustó a cada régimen pluviométrico, determinando una relación directamente proporcional entre  $K_d$  y  $TD_{50}$ , lo cual fue más evidente bajo condiciones naturales. A mayor adsorción, la tasa de degradación disminuyó (aumentando la  $TD_{50}$ ), ya que las moléculas de herbicida no se encuentran disponibles para que los microorganismos del suelo las degraden (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Relación entre  $TD_{50}$  de simazina calculada en campo y características físico – químicas de suelo en un viñedo del valle de Casablanca, Chile.

|         | Condiciones Naturales |              | Riego Adicional |            |
|---------|-----------------------|--------------|-----------------|------------|
|         | $r^1$                 | Prob > $F^2$ | $r$             | Prob > $F$ |
| $K_d$   | 0,39                  | 0,61         | 0,20            | 0,80       |
| pH      | 0,70                  | 0,30         | -0,43           | 0,56       |
| MO      | 0,32                  | 0,68         | 0,97            | 0,02       |
| CICE    | 0,19                  | 0,81         | -0,80           | 0,19       |
| Arena   | 0,59                  | 0,41         | -0,95           | 0,04       |
| Limo    | -0,50                 | 0,49         | -0,15           | 0,85       |
| Arcilla | -0,44                 | 0,56         | 0,71            | 0,29       |

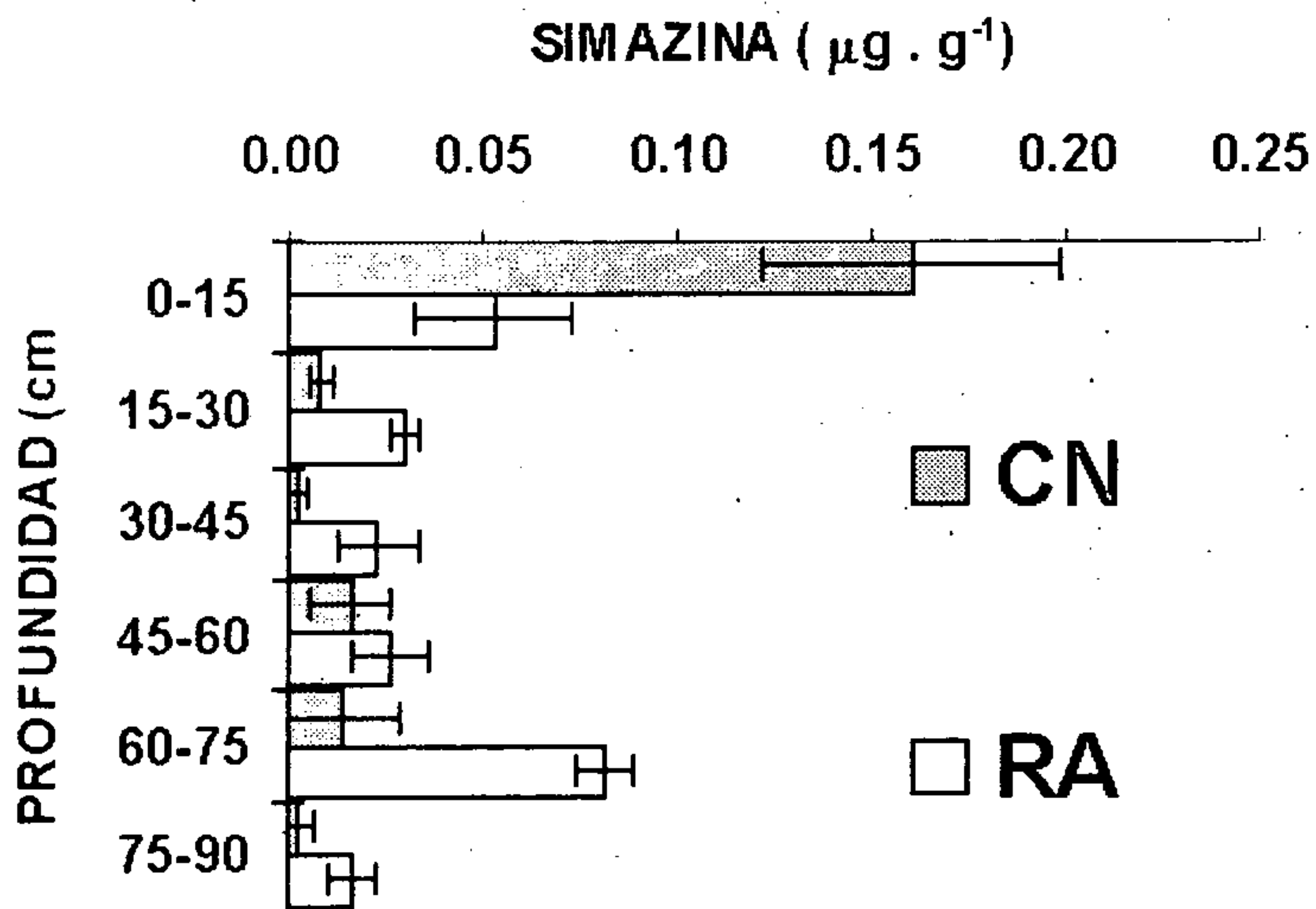
<sup>1</sup> Coeficiente de correlación de Pearson.

<sup>2</sup> Probabilidad de un mayor valor de F.

### 3.4 Movimiento de simazina dentro del perfil del suelo

Se detectó simazina a 90 cm de profundidad 90 DDA tanto en ambos

tratamientos. Debido a que se detectó simazina "residual" en el muestreo previo a la aplicación, las concentraciones de simazina encontradas fueron ser corregidas por estrato. La concentración de simazina detectada dentro del perfil del suelo varió de forma significativa ( $P < 0.05$ ) para algunos estratos dependiendo del régimen pluviométrico (Figura 7). Tal y como pudo observarse en el experimento de disipación, en el estrato de 0-15 cm (estrato superior) la cantidad de simazina 90 DDA fue mayor bajo CN ( $0.161 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) que bajo RA ( $0.05 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ).



**Figura 7.** Concentración de simazina 90 DDA dentro del perfil del suelo arenoso de un viñedo en el valle de Casablanca, Chile, sometido a condiciones naturales (CN) y con 180 mm de agua adicional (RA).

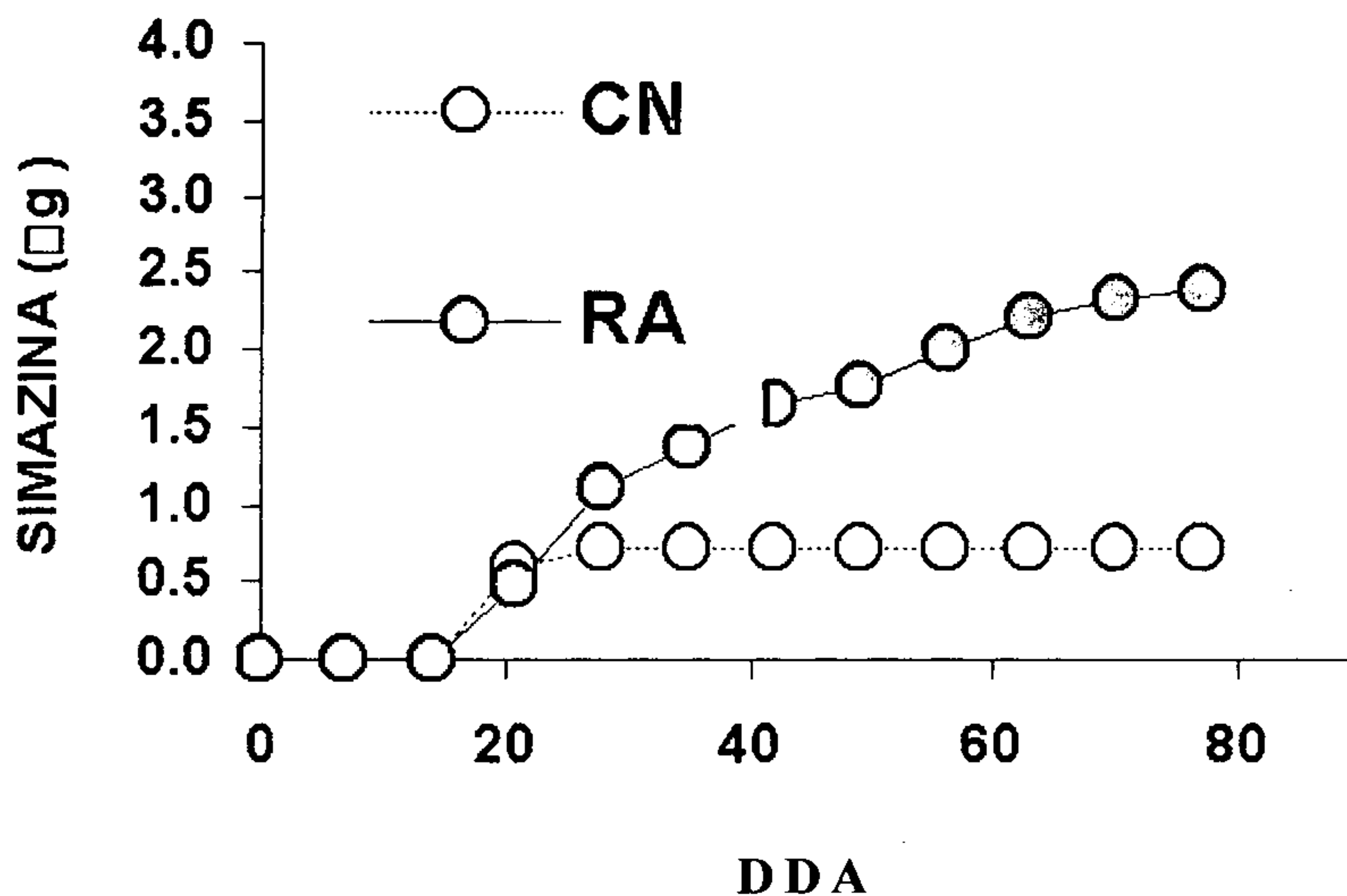
El diferencial de concentración de simazina para CN y RA a los 90 DDA ( $0.101 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) es debido en un 71 % a degradación y en un 6% a movimiento del mismo a estratos inferiores. Sin embargo para RA, la cantidad de simazina movilizaba a estratos por debajo de los 15 cm fue de un 25 % del total aplicado sobre la superficie. Bajo condiciones naturales, un 11% de la simazina aplicada inicialmente fue retenida entre 15 y 75 cm de profundidad y solamente un 0.3% alcanzó el estrato ubicado entre 75 y 90 cm. En contraste, para las condiciones de

riego adicional, 11.5% de lo aplicado en la superficie ( $0,08 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) fue retenido entre 60 – 75 cm de profundidad y un 2.5 % ( $0.02 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) alcanzó el estrato ubicado entre 75 y 90 cm. El movimiento vertical dentro del perfil del suelo ha sido dado a conocer anteriormente para herbicidas suelo activos como atrazina (Troiano *et al.*, 1993; Müller *et al.*, 2003). Para simazina, Kookana *et al.* (1995); reportan un movimiento en profundidad de entre 10 y 25 cm en un suelo con 98% de arena; Liu y Prather (2000) reportan movimiento de un 3% de la simazina aplicada a 75 cm de profundidad en un suelo con 49% de arena, 45% de limo, 6% de arcilla y 1.1% de CO. Los resultados obtenidos, sumados a la presencia de simazina entre 60 y 90 cm en el suelo que arrojó el muestreo de preaplicación, ponen en evidencia el hecho de que bajo las condiciones anaeróbicas predominantes a dicha profundidad, la presencia de simazina en el subsuelo es una fuente potencial de contaminación ambiental, tanto para el suelo como para el agua subterránea. La simazina puede moverse por difusión (Daniels *et al.*, 1998) y persistir durante mucho tiempo, pues su vida media reportada es de 145 días a pH 4.0 y de 1800 años a pH 7.0, debido a su baja tasa de hidrólisis (Comber, 1999). Lo anterior nos lleva a pensar que si la simazina puede alcanzar profundidades de 90 cm dentro del perfil del suelo; podría alcanzar el agua subterránea en lugares donde la napa se encuentra a profundidades menores a 1 m, como es el caso del sitio de estudio.

### **3.5 Movimiento de simazina en columnas de suelo sin disturbar (lisímetros)**

En los cilindros sometidos a condiciones naturales se aplicó un total de 1,128 mL por columna, lo cual equivale a una lámina de 39 mm de lluvia, recuperándose un promedio de 70.63 mL (2.46 % de lo aplicado). Por otra parte, en los lisímetros sometidos a condiciones de riego adicional se aplicó un total de 6,347 mL por columna, equivalente a 219 mm de lluvia. En éste caso el promedio de agua recuperada fue de 1,118.39 mL (17.6 %). Se detectó simazina en los lixiviados tanto de las columnas bajo

condiciones naturales (CN) y bajo condiciones de riego adicional con 180 mm (RA). La cantidad acumulada de simazina a los 75 DDA fue mayor cuando se aplicó riego adicional. (Figura 8).



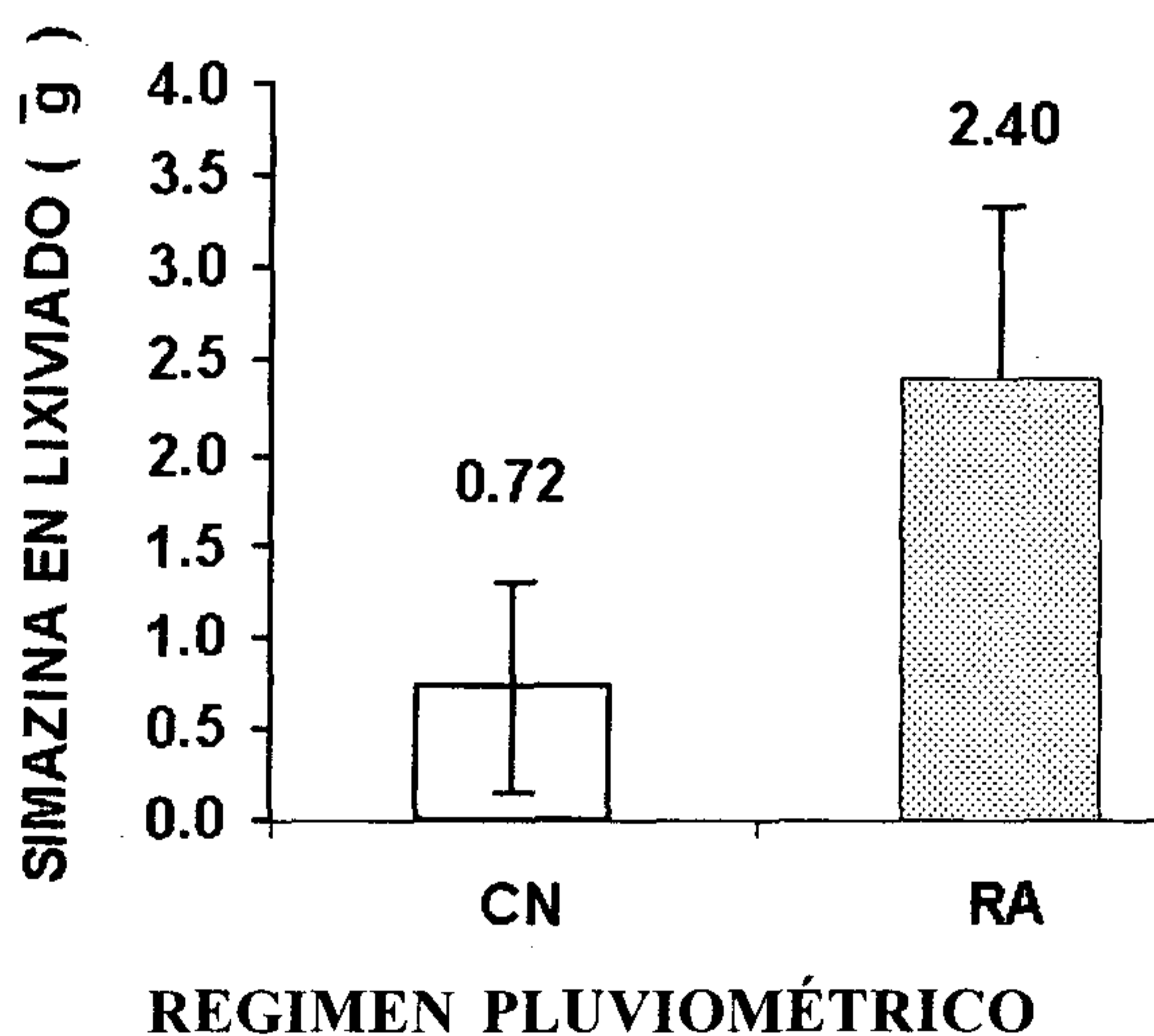
**Figura 8.** Simazina recuperada de lisímetros sin disturbar (20 cm de diámetro x 1.20 m de longitud) sometidos a dos condiciones pluviométricas (CN = condiciones naturales y RA = riego adicional).

La lixiviación potencial de simazina aplicada en columnas de suelo sin disturbar (lisímetros) ha sido anteriormente estudiada. Gómez de Barreda *et al.*, (1993), determinaron la lixiviación y movimiento potencial de simazina a 30 cm de profundidad, al ser aplicada en la superficie de columnas de 40 cm de longitud y 9 cm de diámetro, en dosis equivalente a  $10,0 \text{ kg ia} \cdot \text{ha}^{-1}$ , utilizando cromatografía líquida de alta presión (HPLC) con un límite de detección de  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  y una recuperación del 96.2%. Por otra parte, Cox *et al.*, (2001) detectaron simazina en los lixiviados obtenidos de columnas disturbadas de 5 cm de diámetro y 30 cm de longitud a las que se les adicionó correctores orgánicos líquidos y sólidos a base de Carbono, determinando que la idea general de que la adición de materia orgánica reduce el potencial de lixiviación de simazi-

na, debido al incremento de la capacidad de adsorción en los suelos modificados, no es cierta en todos los casos.

Considerando una aplicación de simazina a una dosis de  $2.0 \text{ kg ia} \cdot \text{ha}^{-1}$ , bajo condiciones naturales del suelo de la viña estudiada, solamente  $0.2 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  (de los  $2,000 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$ ) se distribuirían en profundidades bajo los  $90 \text{ cm}$  del suelo. Los resultados anteriores indican el movimiento de una mínima parte de la simazina aplicada a través del perfil, ya que, a partir de los resultados obtenidos en el presente estudio puede inferirse que alrededor del  $99 \%$  de la simazina aplicada fue retenida y degradada dentro de los  $90 \text{ cm}$  superiores del perfil del suelo a los  $90 \text{ DDA}$ .

En los lisímetros sometidos a condiciones naturales el total de simazina recuperada fue de  $0.72 \pm 0.56 \text{ mg}$ ; mientras que bajo condiciones de riego adicional se recuperó en promedio de  $2.40 \pm 0.92 \text{ mg}$  de simazina (Figura 9); esto corresponde a un  $0.01$  y  $0.03 \%$  del herbicida aplicado respectivamente.



**Figura 9.** Simazina lixiviada a través columnas de suelo sin disturbar (lisímetros) instaladas en el invernadero y sometidas a condiciones plu-

viométricas naturales (CN = 39 mm de lluvia) y con agua adicional (RA = 39 + 180 mm de lluvia).

Resumiendo los resultados obtenidos, se puede indicar que la simazina fue mayormente adsorbida entre los 45 y 60 cm del suelo. No se observó correlación significativa entre el  $K_d$  de la simazina y las características físico – químicas del suelo en estudio. Respecto a la disipación en el estrato superior (15 cm) del suelo bajo condiciones naturales, el tiempo estimado para que se disipara el 50% de la simazina aplicada fue de 33 días, tiempo que disminuyó a 16 días cuando se aplicaron 180 mm de agua adicionales. La vida media registró correlación con ciertos parámetros del suelo, sin embargo es difícil concluir al respecto, debido a la complejidad de las relaciones suelo – herbicida. El movimiento de simazina dentro del perfil del suelo fue mayor bajo las condiciones de riego adicional. Así, al analizar el perfil del suelo a los 90 días después de la aplicación, 11% de la simazina remanente dentro del perfil fue encontrada en el estrato correspondiente a los 60-75 cm de profundidad; sin embargo bajo condiciones naturales 0.3% de la simazina aplicada alcanzó el estrato de suelo correspondiente a 75-90 cm. Al analizar el agua lixiviada de las columnas de suelo sin disturbar, solamente un 0.01 % de la simazina aplicada fue detectada bajo condiciones naturales. En los lisímetros sometidos a condiciones de riego adicional un 0.03% de lo aplicado fue recuperado en el agua colectada. En general, la cantidad de simazina que podría alcanzar profundidades mayores a los 90 cm bajo condiciones naturales del suelo de la viña estudiada es negligible y alcanzaría magnitudes de 0,2 g de simazina. ha<sup>-1</sup>, sin embargo debe tenerse especial cuidado en áreas donde la napa se encuentre a profundidades menores a 1 m, para disminuir el riesgo de contaminación del agua subterránea.

#### 4. BIBLIOGRAFÍA

1. Bouyucos, G. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. *Agronomy Journal* 54: 464-465.
2. Bouquard, C.; Quazzani, J.; Promé J.C.; Michel-Briand, Y. and P. Plésiat. 1997. Dechlorination of atrazine by a *Rhizobium* sp. isolate. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 862-866.
3. Calvet, R. 1980. Adsorption – desorption phenomena. *In: Interactions between herbicides and the soil.* Edited by R. J. Hance. Academic Press, London. 349 p.
4. Celis, R.; Cornejo J.; Hermosin, M. and W. Koskinen. 1998. Sorption of atrazine and simazine by model associations of soil colloids. *Soil Science Society of America* 62: 165-171.
5. Centro de Información de Recursos Naturales (CIREN). 1985. Descripciones de Suelos. Estudio Agrológico Proyecto Maipo. Tomo 1. Región Metropolitana. 365 p.
6. Comber, S. 1999. Abiotic persistence of atrazine and simazine in water. *Pesticide Science* 55: 696-702.
7. Cox, L.; Cecchi, A.; Celis, R.; Hermosin, M.; Koskinen, W. and J. Cornejo. 2001. Effect of exogenous carbon on movement of simazine and 2,4-D in soils. *Soil Science Society of America Journal* 65: 1688-1695.
8. Daniels, W. M.; House, W. A.; Zhmud, B. V.; Rae, J. E. and A. Parker. 1998. Diffusive movement of simazine and lindane in river-bed sediments. *Pesticide Science* 54: 212-222.
9. Dunigan, E. and T. MacIntosh. 1971. Atrazine-soil organic matter interaction. *Weed Science* 19: 279-282.
10. Gee, G. and J. Bauder. 1986. Particle-size analysis. Pages 383-441. *In: Methods of Soil Analysis, Part I, 2nd. ed.* Madison, WI; American Society of Agronomy and Soil Science of America.
11. Goh, K.; Hernández, J.; Powell, S. and C. Greene. 1990. Atrazine soil residue analysis by enzyme immunoassay: solvent effect and extraction efficiency. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 45: 208-214.
12. Goh, K.; Hernández, J.; Powell, S.; Garretson, C.; Troiano, J.; Ray, M. and C. Greene. 1991. Enzyme immunoassay for the determination of atrazine residues in soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 46: 30-36.
13. Goh, K.; Richman, S.; Troiano, J.; Garretson, C.; Hernández, J.; Hsu, J.; White, J.; Barry, T.; Ray, M.; Tran, D. and N. Miller. 1992a. ELISA of simazine in soil: applications for a field leaching study. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 48: 554-560.
14. Goh, K.; Spurlock, F.; Lucas, A.; Kollman, W.; Schoenig, S.; Braun, A.; Stoddard, P.; Biggar, J.; Karu, A. and B. Hammock. 1992b. Enzyme-linked immunoassay (ELISA) of simazine for Delhi and Yolo soils in California. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 49: 348-353.

15. Goh, K.; Weaver, D.; Hsu, J.; Richman, S.; Tran, D. and T. Barry. 1993. ELISA regulatory application: compliance monitoring of simazine and atrazine in California soils. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 51: 333-340.
16. Gómez de Barreda, D.; Gamon, M.; Lorenzo, E. and A. Sáez. 1993. Residual herbicide movement in soil columns. *The Science of the Total Environment* 132: 155-165.
17. Grover, R. 1974. Adsorption and desorption of trifluralin, triallate and diallate by various adsorbents. *Weed Science* 22: 405-408.
18. Hamaker, J. W. 1966. Mathematical prediction of cumulative levels of pesticides in soil. Pages 122-131 *In: R. F. Gould, ed. Organic chemicals in the soil environment.* Marcel-Dekker, New York.
19. Hurle, K. and A. Walker. 1980. Persistence and its prediction. *In: Interactions between herbicides and the soil.* Edited by R. J. Hance. Academic Press, London. 349 p.
20. Kookana, R.S.; Di, H.J. and A. G. Aylmore. 1995. A field study of leaching and degradation of nine pesticides in a sandy soil. *Australian Journal of Soil Research.* 33: 1019-1030.
21. Liu, F. and T. Prather. 2000. Fate of simazine in a drip-irrigated *Vitis vinifera* vineyard. *Weed Science* 48: 514-517.
22. Mapinfo Corporation. 1999. Mapinfo 6.5 User's Guide. Troy, New York. 748 p.
23. Microcal Software Inc. 2000. Microcal Origin help: curve fitting. Northampton, United States. pp. 509-560.
24. Müller, K.; Smith, R.; James, T.; Holland, P. and A. Rahman. 2003. Spatial variability of atrazine dissipation in an allophanic soil. *Pest Management Science* 59: 893-903.
25. Puchalski, M.; Horvath, G.; Loughran, M.; Elsner, G. and W. Koskinen. 1999. Pesticide-contaminated soil sample stability during frozen storage. *Journal of Environmental Quality* 28: 726-729.
26. Rao, P. S. and J. Davidson. 1980. Estimation of pesticide retention and transformation parameters required in nonpoint sources pollution models. pp. 23-29. *In: M. R. Overcash and J. M. Davidson, eds. Environmental impact of nonpoint source pollution.* Ann Arbor Science Publisher.
27. Red Hen Systems Inc. 2001. MapCalc users guide. Fort Collins, Colorado. 97 p.
28. Sadzawka, A.; Grez, R.; Mora, M.; Saavedra, N.; Carrasco, M. y C. ROJAS. 2000. Métodos de análisis recomendados para los suelos chilenos. Boletín de la Comisión de Normalización y Acreditación (CNA) de la Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. Santiago, Chile.
29. SAS Institute. 2000. SAS user's guide. Version 8.2. Cary, North Carolina.
30. Strategics Diagnostics Inc. 1997. RaPID Assay Ó Simazine Test Kit User's Guide. Newark, Delaware. 9 p.

31. Soil Survey Staff. 1999. Soil taxonomy. A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. Second Edition. United States Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service. Washinton, DC. 869 P.
32. Troiano, J. and C. Garretson. 1988. Soil distribution of simazine, diazinon and bromide in sandy soil after exposure to 1985-1986 winter rains in Fresno County. California Dep. of Pesticide Regulation, Environmental Monitoring and Pesticide Management Branch. Sacramento, California.
33. Troiano, J.; Garretson, C.; Krauter, C. and J. Brownell. 1993. Influence of amount and method of irrigation on leaching of atrazine. *Journal of Environmental Quality* 22: 290-298.
34. Troiano, J.; Johnson, B.R.; Powell, S. and S. Schöenig. 1994. Use of cluster and principal component analyses to profile areas in California where groundwater has been contaminate by pesticides. *Environmental Monitoring Assessing* 32: 269-288.
35. Ying, G. and B. Williams. 2000. Mobility and persistence of four herbicides in soil of a South Australian vineyard. *Pest Management Science* 56: 277-283.
36. Zimdahl, R.; Cranmer, B. and W. Stroup. 1994. Use of empirical equations to describe dissipation of metribuzin and pendimethalin. *Weed Science* 42: 241-248.

---

\* Profesor investigador de la FAUSAC.

# FISIOLOGÍA DE LA MADURACIÓN EN LA CAÑA DE AZÚCAR

*Manuel de J. Martínez\**



---

## INTRODUCCIÓN

La planta de caña de azúcar requiere de un descenso de la temperatura ambiental que haga más amplio el rango entre la máxima temperatura diurna y la mínima nocturna, así como una reducción drástica de la humedad del suelo con el fin de reducir su ritmo de crecimiento e inducirle a transformar en sucrosa (o sacarosa) los azúcares reductores que utiliza para proveerse de energía necesaria para su crecimiento y desarrollo.

Por otro lado, el ciclo vegetativo de la caña de azúcar comprende tres etapas que, con ligera variante de acuerdo con la variedad, se definen así: la primera corresponde al desarrollo de las cepas que va desde la germinación o brotación hasta que el campo cierra (5 a 6 meses de edad) y que es la etapa de mayor requerimiento de agua, estando el contenido de humedad en la planta arriba del 85 %; la segunda com-

prende la etapa de formación de sacarosa y se extiende del final de la primera hasta el inicio de la maduración, período en que la humedad del tallo debe ser 78-80 %; la tercera etapa es la maduración propiamente, la que se inicia aproximadamente a los 9 meses de edad, necesitándose entre un 73 y un 75 % de humedad en la planta para obtener una buena maduración.

Fisiológicamente, la maduración es un proceso metabólico en el cual la planta cesa su tasa de crecimiento y desarrollo vegetativo y empieza a acumular energía en forma de sacarosa en los tejidos parenquimatosos del culmo o tallo aéreo.

### **Procesos anatómicos y morfológicos**

Los azúcares formados en la fotosíntesis como son, en su orden, glucosa y fructosa, sufren un proceso de síntesis en el cloroplasto, para convertirse en sacarosa después de una serie de reacciones químicas catalizadas por enzimas presentes en su mayoría en el estroma de este organelo celular. La sacarosa se transloca, entonces de las hojas hacia el tallo y las raíces a través del tejido de conducción denominado floema. Ya en el tallo, sigue un orden de acumulación en las células parenquimatosas o de distribución hacia las zonas de crecimiento en donde es desdoblada, fundamentalmente bajo la acción de la invertasa ácida, en los reductores, glucosa y fructosa que son los azúcares que pueden ingresar al proceso de respiración celular en donde se degradan para producir la energía necesaria para el crecimiento y desarrollo de las células jóvenes.

Una vez ingresada al tejido parenquimatoso del tallo, la sacarosa, bajo la acción de la invertasa neutra, se desdobla en glucosa y fructosa, pero inmediatamente, por la acción de un proceso de fosforilación, da origen de nuevo a la sacarosa que se almacena en las células del mencionado tejido. Esto se muestra gráficamente en la Fig. No.1.

El almacenamiento de sacarosa en el tallo sigue un patrón basipétalo, es decir el azúcar se mueve hacia abajo y se va acumulando en los entrenudos inferiores, disminuyendo su concentración a medida que se asciende hacia el tercio superior del mismo.

La concentración de sacarosa difiere de un tipo de tejido a otro, según sea éste, tejido joven o tejido maduro, estando influenciada por la presencia de diferentes invertasas (enzimas) y por los requerimientos de energía para el crecimiento. En los tejidos jóvenes, en donde la expansión rápida de las células es común, las exigencias de grandes montos de energía requieren que la sacarosa sea hidrolizada rápidamente por la acción de la invertasa ácida produciendo glucosa y fructosa que, a través del proceso de respiración celular proporcionan la energía necesaria para el proceso de crecimiento. Por otro lado, en los tejidos maduros, en donde el crecimiento y desarrollo celular es mínimo, se reduce drásticamente la concentración de la invertasa ácida, predominando mas bien la invertasa neutra, que aparentemente se localiza en el citoplasma, y que promueve la acumulación de la sacarosa en la vacuola.

### **Factores naturales y agronómicos**

La maduración natural en las áreas cañeras de Centro América y el Caribe sigue un comportamiento que ha hecho adecuar el período de cosecha, denominado zafra, buscando cortar la caña en los momentos de máxima concentración de sacarosa. De esta manera, en la primera etapa de la zafra, noviembre a enero, los niveles de sacarosa son bajos, debido principalmente a la alta humedad residual en el suelo. Luego, en la segunda etapa, febrero a marzo, se obtienen los niveles máximos de sacarosa, cuando la humedad del suelo permite la maduración óptima de la caña. Finalmente, en la tercera etapa, abril a junio, se presenta un descenso rápido en la concentración del azúcar debido a la reanudación de las lluvias en estos meses del año.

## **Factores naturales**

Entre los principales factores del clima que condicionan la maduración de la caña de azúcar se encuentran: la precipitación pluvial, la temperatura y la luminosidad, por ello deben analizarse separadamente cada uno de estos factores.

### **Precipitación pluvial**

La disponibilidad de agua para la caña de azúcar debe ser adecuada en la etapa de desarrollo, de tal manera que permita la absorción, transporte y asimilación de nutrientes, necesarios para el normal desarrollo y crecimiento vegetativo de la planta, pero durante el inicio y el desarrollo de la maduración en sí, dicha disponibilidad debe ser ampliamente reducida. Cuando la precipitación disminuye y por lo tanto la disponibilidad de agua en el suelo se reduce drásticamente, la planta decrece su ritmo de desarrollo celular, y consecuentemente su crecimiento, lo que conduce a una acumulación de sacarosa principalmente en el tercio superior, fenómeno que es ampliamente conocido como maduración. En ambientes dotados naturalmente, tal el caso de Hawai, donde los niveles de humedad del suelo pueden manejarse mediante prácticas agronómicas, el cultivo puede crecerse y "madurarse" manejando la disponibilidad de agua en el suelo. Si se humedece adecuadamente la capa arable del suelo, mediante riego por ejemplo, el cultivo crece vegetativamente acumulando poca sacarosa en los tallos, mientras que si se reduce el contenido de humedad, por debajo del nivel de capacidad de campo por ejemplo, se produce la maduración de los tallos ya que aumenta considerablemente su concentración de sacarosa.

### **Temperatura**

Este es probablemente el factor climático de mayor importancia en la maduración de la caña de azúcar, lo que es compartido por distintos

investigadores, al decir que los descensos de temperatura en un período prolongado de tiempo, aun con un suministro abundante de nitrógeno y humedad, puede retardar el crecimiento y aumentar el contenido de sacarosa en los tallos. Ello se atribuye al efecto directamente proporcional que ejercen las temperaturas sobre la absorción de agua y nutrientes por la planta.

El mayor efecto de la temperatura se produce cuando se conjuga con períodos de sequía y una oscilación térmica entre 11-12 grados centígrados, condición que favorece la acumulación de sacarosa en el tallo, por lo tanto incrementando el rendimiento de azúcar.

### **Luminosidad**

La luz como principal fuente de energía para los cultivos, en este caso caña de azúcar, juega un papel importante en la producción y almacenamiento de sacarosa en las hojas y en los tallos, respectivamente. En la producción, porque siendo la caña de azúcar una planta fotosintéticamente C4, la hace, por un lado, muy eficiente en la absorción de energía lumínica en los cloroplastos, pero por el otro, también muy exigente en los niveles de energía radiante que deben estar alcanzándose en los tejidos foliares, para poder ser eficiente en la formación de biomasa que agrónomicamente se traduce en tonelaje de caña y finalmente azúcar.

### **Factores agronómicos**

En la mayoría de países tropicales la caña de azúcar es plantada bajo la programación de ser cosechada durante la estación seca. Durante este período, el sistema radicular domina el crecimiento de la planta por lo que los niveles de azúcar en la caña se incrementarán, a medida que el contenido de humedad decrece en la capa arable del suelo. Contrariamente, durante la estación lluviosa, hay un rápido crecimiento del ápice del tallo. Durante este período de cuatro a cinco meses, el crecimiento apical del

tallo domina la planta y no el crecimiento radicular, por lo que los niveles de azúcar en la caña son bajos.

Este comportamiento está grandemente influenciado por una serie de factores agronómicos, siendo los más relevantes: la variedad cultivada, la fertilización y el riego, los que se discuten a continuación.

### **Variedad**

Cada variedad debe ser sembrada en un período adecuado de tiempo para poder ser cosechada en el momento que de acuerdo a su patrón de maduración (máxima concentración de sacarosa) se encuentre en su estado óptimo.

Para el caso de Centro América y el Caribe, las variedades pueden clasificarse de acuerdo a la época o período de la zafra en que se intenta cosecharlas, agrupándose en tres categorías: variedades para inicios de zafra, variedades para mediados de zafra y variedades para finales de zafra, siendo un factor determinante su hábito de floración. Así tenemos que las variedades floreadoras, en su mayoría oriundas de Canal Point (Florida, Estados Unidos), se usan para iniciar la zafra ya que naturalmente concentran niveles aceptables de sacarosa en los meses de noviembre y diciembre debido a que al transformarse el crecimiento vegetativo en reproductivo, la planta finaliza su crecimiento produciendo un buen nivel de maduración. Esto hizo que, para el caso de Guatemala, se introdujeran varios de estos materiales llegándose al extremo que en la actualidad aproximadamente el 80 % del área sembrada con caña lo constituyen variedades floreadoras.

Por otro lado, se busca que para mediados y para finales de zafra las variedades concentren niveles aceptables de sacarosa, pero que no sean floreadoras, ya que de otro modo la floración, que debe haberse iniciado en octubre normalmente, produce deterioro que se ve incrementado con

cada día que permanece la caña floreada en el campo. Ello significa que, naturalmente, en los meses de febrero a mayo no deberían cosecharse variedades floreadoras, a menos que se les induzca artificialmente un mecanismo que detenga el deterioro e incremento, o mantenga al menos, los niveles de sacarosa alcanzados.

### **Fertilización**

La mayoría de campos cultivados con caña de azúcar tienen niveles adecuados de fertilizante para maximizar la producción de fotosintatos, pero ha sido olvidado que, probablemente, lo más importante en la producción de azúcar por unidad de área, es obtener el máximo movimiento de azúcar fuera de cada hoja, y no tanto la producción total de fotosintatos. El movimiento de azúcar fuera de cada hoja puede ser un tanto variable, siendo afectado por el monto de nitrógeno en la planta. Este movimiento de azúcar fuera de las hojas es el factor más grande, y prácticamente único, que determina el total de azúcar por unidad de área. Por ello, muchos autores consideran que la fertilización, principalmente nitrogenada (como nitrato no tanto como amonio), debe reducirse severamente al final del período vegetativo si se pretende una buena conversión de azúcares reductores en sacarosa.

### **Riego**

En regiones donde se manejan los riegos después del período de establecimiento, llamados riegos precosecha, deben controlarse los períodos de irrigación antes de la cosecha. Una eliminación o reducción drástica de la lámina de agua aprovechable para la planta, la predispone a detener su tasa de crecimiento, y con ella utilizar menos sacarosa, consiguientemente, elevando la concentración de ésta en los tallos, dando paso así al proceso de maduración.

En resumen, la edad no es sinónimo de madurez ya que, cuando el agua

y el nitrógeno se mantienen a niveles elevados, la caña no madura, independientemente de su edad.

### **La maduración inducida**

El que hacer de la agroindustria azucarera por definición es producir azúcar como tal, sin embargo, es necesario puntualizar que la producción de azúcar esta directamente relacionada con el tonelaje obtenido por unidad de área (hectárea en general) y el rendimiento o contenido de sacarosa por unidad de peso (tonelada) de caña molida.

Anteriormente se mencionaba que entre los principales factores naturales y agronómicos que limitan la maduración natural de la caña de azúcar se encuentran la humedad del suelo, el nitrógeno y la temperatura ambiental, factores que son difíciles de controlar sin la ayuda de un medio artificial, a menos que se cultive en ambientes dotados por la naturaleza en que la planta acumula suficiente concentración de sacarosa como para hacer de la producción de azúcar una actividad altamente rentable. De otra manera, se justifica y prácticamente se hace imprescindible el uso de productos químicos para inducir la acumulación de sacarosa y a la vez, sincronizar la maduración de la caña de acuerdo con la programación de la zafra. Esto ha dado paso a la utilización de la tecnología de aplicación de madurantes en el cultivo de la caña de azúcar que en Guatemala y en general en todo Centro América, así como en Colombia, ha sido altamente rentable.

La amplia difusión del uso de madurantes en caña de azúcar en los últimos años, especialmente en Guatemala y Colombia, ha hecho que surjan una serie de interrogantes que no son de fácil respuesta, lo que ha conducido a que en países cañicultores por excelencia, como Brazil y Cuba, la práctica no sea de uso extensivo.

La investigación sobre compuestos inductores de la maduración data desde el año 1949, estando registrado que los primeros candidatos fueron herbicidas y fue solamente hasta el inicio de la década de 1970 que la glifosina, comercializada por la compañía Monsanto con el nombre de Polaris, viniese a registrarse y a constituirse como el estándar comercial de comparación. Diez años más tarde, Monsanto registró y comercializó el Polado, con su ingrediente altamente activo glifosato.

En Guatemala las primeras pruebas en el uso de madurante, en este caso glifosato, se hicieron en la primera parte de los años 70, pero ni las pruebas, ni el uso comercial cobró vigencia sino hasta finales de la década de los 80, cuando en Estados Unidos y Colombia ya era comercial el uso de glifosato como madurante y se vislumbraba el apareamiento de fuertes contendientes como el etefon, comercializado por Union Carbide como Ethrel, y la melfluida, comercializada por la compañía 3M con el nombre de Embark. Ya en ese entonces, en los Estados Unidos, aparecían dos nuevos candidatos constituidos por el fluazifop, comercializado por la Imperial Chemical Industries como Fusilade, y el setoxydim registrado con el nombre de Poast por BASF.

El uso comercial de madurantes en Guatemala principia alrededor del año 1989, y como se mencionara anteriormente la práctica se ha incrementado considerablemente, al grado que en la actualidad se le aplica madurante a aproximadamente el 60 % del área cultivada con caña (110,000 ha de un total de 180,000). Entre el 85 y el 90 % del área aplicada con madurante lo constituye glifosato, nombre comercial Roundup y Rival, estando el restante porcentaje integrado por fluazifop, nombre comercial Fusilade, y en menor escala etefón o Ethrel y otros.

En la actualidad, lo atractivo y beneficioso de la práctica de aplicación de madurante en la caña de azúcar, ha conducido a la investigación sobre nuevos productos, en su mayoría con propiedades herbicidas, que

puedan inducir la acumulación de sacarosa en el cultivo, habiendo algunas opciones que se muestran promisorias, las que se enumeran a continuación, pero que necesitan aun probarse en distintas condiciones:

Balanceador de Auxinas (no registrado aún)

Quizalofop (registrado como Assure o Targa)

Haloxifop (registrado como Galant)

Cletodim (registrado como Select)

Aún cuando el madurante no es la panacea milagrosa, que pueda revertir un mal manejo del cultivo, debe recordarse que esta tecnología reviste un potencial que permite obtener las siguientes bondades: Mejorar el contenido de azúcar de cultivares que responden a la aplicación.

Incrementar la producción de azúcar por unidad de área.

Reducir el volumen de cogollo y subsecuentemente los niveles de "trash" que se transportan a la fábrica.

Adelantar la fecha de inicio de la zafra (primera semana de noviembre en Guatemala).

Extender el período de duración de la zafra, aún hasta los meses en que inicia la nueva estación lluviosa (abril y mayo para el caso de Guatemala).

Detener el crecimiento en "mamones" y tallos exuberantes presentes en áreas abiertas o con cañas postradas.

Detener o suprimir la floración, si las fechas de aplicación coinciden con las fechas de la iniciación floral.

Hacer que la caña se mantenga erecta, y no se vuelque, al reducir considerablemente el peso del "cogollo", dando como corolario económico el beneficio de mejorar la cosecha mecanizada.

Promover el secado del material vegetativo, mejorando así la quema y reduciendo el "trash" a ser transportado y molido.

Promover una mayor eficiencia del ingenio, al reducir el "trash" y mejorar la extracción y procesamiento de los jugos.

A menudo estos beneficios no se logran obtener debido a factores negativos o al desconocimiento de las características del madurante empleado. Por ello, deben conocerse una serie de factores que se hacen indispensables para obtener una buena respuesta en el uso de esta técnica, sobresaliendo los siguientes:

### **Variedad**

Este es probablemente el factor prioritario a tomar en cuenta para el éxito de la práctica. Ciertas variedades simplemente no responderán al madurante, o lo harán solamente después de que cierto nivel de madurez ha sido alcanzado. En resumen, los madurantes no actuarán a menos que la variedad se encuentre fisiológicamente lista para iniciar su rápido proceso de acumulación de azúcar.

### **Condiciones agronómicas**

Un campo determinado puede mostrar muy poca respuesta a la aplicación de madurante, si ya se encuentra en un estado muy avanzado de maduración promovido por la edad, la disminución de humedad en el suelo, el descenso de la temperatura, carencia de nitrógeno, etc. Las plantaciones no responderán adecuadamente si han sido sobre-fertilizadas con nitrógeno (especialmente tarde en el ciclo), si la humedad del suelo permanece alta, si la temperatura permanece cálida, si el cultivo es aún muy joven o si existe una combinación de estos factores. Es por ello, que los cañicultores deben seleccionar campos en los cuales se pueda maximizar el valor económico de la aplicación de madurante, lo que in-

cluye la selección de lotes con suficiente "tonelaje" disponible para construir y almacenar azúcar.

A veces puede suceder que ciertos cultivares no respondan a los madurantes, pero otros si lo hagan rápidamente, ocasionando que el mejoramiento en la calidad del jugo pueda ser contrarrestado por una reducción en el tonelaje al momento de la cosecha. Aquí es donde se hace necesaria la investigación de campo, ya que solamente la experiencia y las pruebas nos proporcionarán la información sobre la interacción madurante vs. variedad, especialmente en lo relacionado a características del producto usado como madurante tales como modo de acción, dosis aplicadas, época de aplicación, período óptimo post-aplicación y efectos en la soca subsecuente.

### **Los madurantes**

En la búsqueda del madurante perfecto debe tratar de encontrarse un regulador del crecimiento vegetal que permita tener flexibilidad al proporcionar un período corto pero eficiente de acción y que produzca una curva rápidamente ascendente de contenido de azúcar, la que al pasar el período de acción permanezca en una cima, y finalmente, que no conduzca a efectos residuales de deterioro en el cultivo sino que permita la reanudación de una actividad normal de la planta.

El criterio más difícil, y probablemente el decisivo, en la selección del madurante adecuado, es que no ocurran efectos adversos en un plazo prudencial después de la aplicación del madurante si la cosecha se retrasase más allá del período de acción normal, lo que significa permitir flexibilidad en la programación de la cosecha.

Los madurantes exitosos deben reunir otra serie de características adicionales, entre las que sobresalen:

En las dosis recomendadas no deben estar presentes como residuos en los productos finales.

No deben moverse o infiltrarse hacia el manto freático del suelo, al usarse en dosis adecuadas.

Ser de baja toxicidad para los mamíferos.

Todas estas características pueden explicarse mediante la interpretación del modo de acción del madurante empleado que, como se señalara anteriormente, la mayoría son herbicidas y que prácticamente quedan comprendidos en dos grandes categorías:

Los que afectan la producción de aminoácidos aromáticos e inhiben la actividad de la invertasa ácida. En esta categoría se encuentra el glifosato (comercializado como Round-up o Rival)

Los que afectan la síntesis de lípidos. Esta categoría incluye dos grupos de herbicidas catalogados como graminicidas selectivos:

## **LOS CICLOHEXADIONES**

Sethoxydim (Nabú, Poast)

Clethodim (Select)

La producción de proteínas en el vegetal es un proceso lento, por lo que la reducción o carencia total de éstas se manifiesta cierto tiempo después de que el producto herbicida ha sido absorbido y transportado al sitio de acción. La acción lenta del herbicida se debe a que biológicamente, las células siempre tienen disponibilidad de aminoácidos y proteínas por lo que sus procesos biológicos continúan aún bajo la acción del herbicida y es hasta que hay suficiente carencia de aminoácidos que empiezan a manifestarse los síntomas de toxicidad.

Ahora bien al utilizarse como madurante, lo que se logra mediante el manejo de la dosis aplicada, el herbicida se transforma en un regulador del crecimiento vegetal ya que "la subdosis" usada solamente priva parcialmente de la enzima a la vía biosintética del shiquimato, traduciéndose ello en una reducción de la tasa de crecimiento, pero no en la muerte de las zonas meristemáticas, por lo que el crecimiento continua a un menor ritmo que el normal. Esto se refleja en la ya discutida acumulación de sacarosa, principalmente en los tallos de la caña de azúcar. El efecto madurante del glifosato también se complementa por la acción inhibitoria que ejerce sobre la invertasa ácida, enzima que en los tejidos jóvenes y zonas meristemáticas es la responsable de la degradación de la sacarosa en glucosa y fructosa, substratos indispensables para el inicio de la respiración celular en los mitocondrias, la que finaliza con la producción de la energía biológica, ATP, fuente energética para los distintos eventos biológicos.

En resumen, el modo de acción del glifosato se explica mediante dos fenómenos:

La acción inhibitoria sobre la enzima 5-enolpiruvil shiquimato-3-fosfato sintetasa, bloqueando así la vía biosintética del shiquimato.

La inhibición de la invertasa ácida deteniendo así la degradación de la sacarosa que de esta manera se acumula en los tallos.

#### MODO DE ACCIÓN DE LOS CICLOHEXADIONES Y LOS ARILOXIFENOXIPROPIONATOS

Los ciclohexadiones (sethoxidim y clethodim) y los ariloxifenoxipropionatos (fluazifop, haloxifop y quizalofop) son dos grupos de herbicidas que actúan inhibiendo la síntesis de lípidos en las células jóvenes y meristemáticas de plantas gramíneas. Debido a su rápida translocación hacia el "ápice del tallo" y "los meristemas intercalares" finales (últimos dos o tres nudos del tallo), el tejido nuevo es amarillento tornándose necrótico

por lo que las hojas del cogollo se pueden separar fácilmente del resto de la planta, observándose la base del cogollo podrida. Asimismo, en los subyacentes dos o tres entrenudos se forma un "anillo necrótico" producto de la muerte de las células de los meristemos intercalares presentes en éstos.

Su modo de acción se caracteriza por la inhibición de la enzima acetil CoA carboxilasa, localizada en los cloroplastos, bloqueando con ello la reacción de acetil CoA para convertirse en malonil CoA y deteniendo así la producción de ácidos grasos que son muy usados en lugares de alta actividad meristemática, como es el caso del cogollo (ápice) y los nudos (meristemos intercalares) de las gramíneas.

La acción madurante en la caña de azúcar esta dada por la subdosis que se emplea, ejerciendo su acción sobre el cogollo, el cual muere, y sobre los nudos superiores, en los cuales se forman anillos necróticos. Esta acción se traduce en una detención total del crecimiento, al morir el meristemo terminal, con lo que la planta, debido a que su crecimiento cesa, acumula sacarosa ocasionando su maduración. En pocas palabras, al privar de ácidos grasos a las zonas meristemáticas se llega a destruir la permeabilidad de las membranas, causando la necrosis que se observa en el cogollo y en los nudos superiores del tallo.

La muerte del cogollo y de los meristemos intercalares superiores "rompe la dominancia apical" ocasionando que las hormonas naturales, que regulan el crecimiento y desarrollo vegetativo normal de la planta, se transloquen hacia las yemas laterales incitándolas a romper su dormancia e iniciar el desarrollo vegetativo lo que provoca la formación de los brotes laterales conocidos como "lalas". Esto conduce a que la planta no deba permanecer más de cinco o seis semanas después de haberse aplicado, en este caso el herbicida con función de madurante.

Con la difusión amplia que ha tenido la práctica de aplicación de madurante en los últimos años, especialmente glifosato, han surgido una serie

de interrogantes que necesitan responderse para hacerla más eficiente y segura. Para el caso de Guatemala, y Centro América en general, principalmente se cuestiona lo relativo a la interacción del madurante con la floración, la interacción del madurante con la humedad del suelo y la respuesta que se pueda obtener al aplicarse en condiciones de estrés hídrico. Estos tres aspectos se analizan seguidamente.

## RESPUESTA DEL MADURANTE BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS HÍDRICO

El agua puede limitar el crecimiento y desarrollo, y con ello la productividad de un cultivo en cualquier sitio, ya sea por períodos secos inesperados o por lluvia normalmente baja que hace necesario el uso del riego. Cuando se retiene el agua a una planta que crece en un volumen de suelo bastante grande, sucede una secuencia de fenómenos que se desarrolla de una manera más bien gradual. Es importante comprender que, más que el estrés hídrico en sí, los fenómenos finales, casi sin duda, son respuestas indirectas a uno o más de los primeros.

Entre los procesos vegetales más sensibles al estrés hídrico se encuentran el crecimiento celular, la síntesis o formación de la pared celular y la síntesis de proteínas. Por lo común las plantas se recuperan si reciben agua cuando no han alcanzado el llamado Punto de Marchitez Permanente (PMP), condición que en la mayoría de suelos agrícolas está referida a la humedad contenida en los poros del suelo a una tensión aproximada de 15 atmósferas. Esto significa que a pesar de la severidad del estrés hídrico, la respuesta a éste es elástica, o por lo menos un tanto elástica, ya que el crecimiento, y por otro lado la fotosíntesis de las hojas jóvenes no alcanza las tasas originales por varios días. Ello fundamentalmente se debe a que el crecimiento es especialmente sensible al estrés hídrico, a tal grado que la productividad puede disminuir notablemente con una sequía moderada.

Como resultante de ello, tenemos que durante el estrés hídrico, las célu-

las permanecen más pequeñas y las hojas se desarrollan menos, lo que da por resultado una reducción del área requerida para la fotosíntesis. Por otro lado, las plantas pueden ser especialmente sensibles aún a sequías moderadas durante ciertos períodos, tal es el caso de la fase de macollamiento y la formación de los primordios florales en caña de azúcar. Al fin de cuentas, en el sentido de la producción final, de hecho las respuestas a las condiciones de estrés son plásticas, aún cuando el estrés hídrico sea moderado.

Antes de discutir la respuesta que puede esperarse de la aplicación de madurante bajo condiciones de estrés hídrico es necesario plantear el mecanismo de respuesta de las plantas a estas condiciones y también el mecanismo de respuesta a condiciones de extremada humedad en el suelo.

### **Mecanismo de respuesta de las plantas al estrés hídrico**

Hay por lo menos cinco posibilidades de explicar la manera de cómo el estrés hídrico daña a una planta de un cultivo cualquiera, éstas son:

La actividad hídrica se ve disminuida, pero esta disminución no es tan drástica debido a que los potenciales hídricos no varían demasiado, o por lo menos no lo suficiente como para tener alguna consecuencia en las reacciones químicas.

Los solutos incrementan su concentración cuando se pierde agua. No es tan importante, especialmente porque en la mayoría de situaciones la concentración cambia el porcentaje sólo levemente.

Cambios especiales en las membranas. Estos efectos ya han sido demostrados, pero debido a que hay otros factores que pueden causar efectos semejantes sin que la planta responda de una manera extraordinaria, no parece probable que éste sea un aspecto importante de las respuestas que la planta presenta ante el estrés hídrico.

Perturbación de la hidratación de las macromoléculas. Al perturbar el agua de hidratación de las macromoléculas, también se puede afectar la función de las mismas. Esto puede conducir a la “desnaturalización” de enzimas clave en los procesos biológicos. Sin embargo, hay estudios que han demostrado de manera sorprendente, que la célula puede perder una buena cantidad de agua, antes de que la función enzimática se perturbe notablemente.

Cambios grandes de la presión de turgencia de las células vegetales. Esto se manifiesta aún en los cambios más leves de potencial hídrico ya que se ha dicho que el crecimiento en general es muy sensible al estrés hídrico y ello probablemente sucede cuando se disminuye la turgencia de la célula. Existe evidencia de que se produce ABA (ácido absícico) como respuesta a la disminución de turgencia en las células de la hoja. El ABA es la hormona de senescencia de las plantas superiores y un indicador de que un tejido u órgano vegetal está “envejeciendo” por un proceso normal o por estar sometido a un factor estresante.

### **Mecanismo de respuesta de las plantas a condiciones de excesiva humedad en el suelo**

Una inundación puede producir una condición de estrés bastante opuesta a la que generan los potenciales de agua en extremo negativos resultantes de una sequía o de un ambiente desértico, pero, en este caso, el daño resulta de la exclusión de oxígeno más que por un elevado potencial hídrico.

La caña de azúcar, y en general muchas gramíneas, pueden adaptarse a sobrevivir en suelos inundados ya que tienen la capacidad de producir raíces adventicias en cualquiera de sus entrenudos, principalmente los inferiores, lo que les permite continuar sus funciones vitales básicas de absorción y transporte aún en ambientes sobresaturados de agua. Esto lo realizan ya que en los entrenudos, aun los más viejos, existen

células meristemáticas que de acuerdo al estímulo que reciban pueden generar células y tejidos para formar casi cualquier órgano vegetal. La falta de oxígeno, en el sistema rizomatoso y radicular, que se encuentra sumergido en una condición de suelo inundado ocasiona la muerte de la mayoría de raíces y el aletargamiento de los rizomas, por lo que constituye un estímulo para los meristemas intercalares ubicados en los entrenudos cercanos que se encuentran sobre la superficie. Este estímulo conduce a la producción de nuevas raíces adventicias que quedan sobre la superficie, pudiendo ejercer la función de absorción de agua y nutrientes que era atributo de la macolla y raíces en una condición normal.

Asimismo, es necesario puntualizar que los rizomas y algunas raíces adventicias principales, permanecen viables, aunque latentes, aún en un suelo inundado, debido a que sus células tienen la habilidad de entrar en un ritmo metabólico mínimo que puede realizarse con muy poco oxígeno y el cual es obtenido del que se encuentra disuelto como gas en el agua del suelo. Este mecanismo de absorción de oxígeno es el que permite llevar a cabo el cultivo de arroz en el sistema de inundación. Por otro lado, en el caso de la caña de azúcar, la dominancia apical de los tallos o culmos que crecen fototrópicamente constituye un sumidero para las hormonas reguladoras de crecimiento, conduciendo a los rizomas y yemas subterráneas a entrar en latencia y permanecer así, mientras dure la dominancia apical.

#### APLICACIÓN DE MADURANTE BAJO CONDICIONES DE ESCASEZ DE HUMEDAD EN EL SUELO (Fenómeno del niño)

La caña de azúcar, según se ha señalado, es muy resistente aún a la condición más severa de falta de agua en el suelo, pudiendo soportar potenciales hídricos negativos mayores a las 15 atmósferas de tensión sin producir efectos fisiológicos detrimentales para la planta. Ahora bien, como ya se puntualizó anteriormente, aún las sequías más leves pueden

conducir a una disminución en el crecimiento y alargamiento de las células, lo que se traduce en una reducción del crecimiento en general de la planta, con lo que la producción de biomasa se ve asimismo mermada. Ello nos conduce a deducir lógicamente que, los períodos de falta de agua durante la fase vegetativa del cultivo, afectarán fundamentalmente la producción de biomasa y con ello el tonelaje del mismo. Sin embargo, esta carencia de agua en la mencionada fase de desarrollo, no tendrá ningún efecto en la respuesta de la planta a la aplicación de madurante en la fase de maduración previo a la cosecha. Más bien, lo importante es la condición de estrés en las últimas dos semanas antes de la aplicación, por lo que la decisión de aplicar o no madurante debe ser tomada a nivel de lotes particulares y no de áreas en general.

Por ello, cuando las condiciones ambientales durante la fase vegetativa del cultivo, le han inducido una condición de estrés, pero que al momento de la aplicación del madurante ésta ha desaparecido o es moderada, entonces no hay razón para dejar de percibir los beneficios a que conduce la práctica de la maduración inducida.

A grandes rasgos, las condiciones de estrés al momento de la aplicación de madurante pueden determinarse en base a los siguientes parámetros:

El crecimiento y desarrollo del cultivo: lo que agronómicamente se conceptualiza en base al tonelaje estimado de un área determinada.

La interacción de la textura con el contenido de humedad del suelo: la que determina el estado fisiológico de la planta y con ello su respuesta a la acción del madurante.

En función de estos parámetros, se pueden conceptualizar tres grandes categorías de estrés, a saber:

Estrés leve: Cuando las reducciones en el tonelaje no van más allá del 10 % del estimado o esperado en un lote en particular, y el suelo gene-

ralmente es de textura franca a franco-arcillosa, es decir, con buena capacidad de retención de humedad.

**Estrés moderado:** Cuando el tonelaje se ve mermado en un 10 a 20 % del estimado o esperado, y la textura del suelo es mediana, es decir franca o franco-arenosa, pero con una regular capacidad de retención de humedad.

**Estrés severo:** Cuando hay una reducción del tonelaje más allá del 20 % del estimado, y el suelo es muy liviano, es decir de textura arenosa con muy baja o ninguna capacidad de retención de humedad.

Entonces, dependiendo de las condiciones de estrés del cultivo, llegado el momento de la aplicación del madurante, la decisión puede ser:

Aplicar madurante, en condiciones de estrés leve a moderado.

No aplicar madurante, en condiciones de estrés severo.

Para los casos en que se decide aplicar madurante, estrés leve a moderado, debe ajustarse la dosis en base al tonelaje estimado y la relación textura-humedad del suelo, de la siguiente manera:

**Ajuste de dosis en suelos de textura media a pesada:** Se hace básicamente en base al tonelaje estimado, reduciéndose la dosis proporcionalmente en una relación 1:1 con respecto a la reducción, en %, en el tonelaje.

**Ajuste de dosis en suelos de textura liviana:** El ajuste se hace en función de los dos parámetros, es decir, un ajuste en base al tonelaje estimado como en el caso anterior y, un ajuste adicional en base a la relación textura-humedad del suelo de la misma magnitud que el ajuste para el tonelaje. Así si habría que ajustar la dosis para un lote arenoso donde haya una reducción del 15 % del tonelaje estimado, es necesario reducir

la dosis a aplicar en un 30% (15 % para tonelaje y 15 % para la relación textura-humedad del suelo).

## APLICACIÓN DE MADURANTE BAJO CONDICIONES DE EXCESIVA HUMEDAD EN EL SUELO (Fenómeno de la niña)

La planta de caña de azúcar creciendo en una condición de suelo inundado, o con contenidos de humedad a tensiones menores de  $1/3$  de atmósfera, es inducida a entrar en letargo o dormancia de su sistema rizomatoso (macolla) y radicular, produciéndose incluso la muerte de gran cantidad de raíces y raicillas al establecerse la condición de anegamiento. Como mecanismo de defensa, más bien de adaptación de la planta, se incita la formación de un sistema radicular adventicio a partir de los entrenudos inferiores más cercanos a la superficie del agua o suelo inundado, produciéndose una disminución generalizada de los procesos metabólicos del vegetal, pero con sus células totalmente activas y aptas para realizar todas sus funciones vitales.

Bajo esta condición, la aplicación de madurante como una práctica opcional de inducción de acumulación de sacarosa, debe tomarse como obligada, ya que de otra manera la dominancia apical conducirá a mantener vegetativamente a la planta, es decir, difícilmente entrará naturalmente en el proceso de maduración, caracterizado por la acumulación de sacarosa, principalmente en el tercio superior de la planta.

Ahora bien, para obtener una respuesta efectiva del madurante aplicado en esta condición estresante o de aletargamiento de la planta, es necesario corregir la dosis, en este caso haciendo un ligero incremento en la misma en un rango de 10-25 % de la normal, dependiendo del grado de aletargamiento de la planta provocado por el nivel de saturación del suelo. Esto es prácticamente obligado pues, como se señalara anteriormente, el ritmo metabólico de la planta sometida a esta condición es bajo, por lo que la absorción y transporte del madurante desde las hojas hasta sus

sitios de acción es muy problemática y se realiza lentamente, necesitando por ello mayor cantidad de producto que en condiciones normales. En otras palabras, una dosis normal de madurante, aplicado en condiciones de suelos inundados, producirá un efecto menor o a veces nulo debido a que muy poco o ninguna cantidad de éste tiene la posibilidad de ingresar y desplazarse hacia los sitios de acción en el vegetal.

Finalmente, en una condición estresante de escasez de humedad en el suelo, es necesario tener presente que aún la más leve sobredosis de madurante puede conducir a causar fitotoxicidad al sistema rizomatoso (macolla) en el momento del rebrote, debido a que cualquier cantidad de producto que ingrese al sistema de transporte (floema) de la planta está en la capacidad de movilizarse hacia los sumideros activos en ese momento, siendo éstos no solamente el ápice del tallo sino también la macolla misma que ha formado raíces profundas en busca de humedad remanente en las capas inferiores del suelo. Por otro lado, en la condición estresante de excesiva humedad en el suelo, no hay riesgos de causar toxicidad al sistema rizomatoso, y con ello al rebrote, debido a que, por un lado es muy poco el producto que se moviliza por el floema de la planta, y por el otro, el sumidero representado por el ápice del tallo (cogollo) es el único activo por lo que, el madurante prioritariamente se moviliza hacia éste y prácticamente ningún monto del mismo se desplaza hacia la macolla.

---

\*Fisiólogo consultor, profesor investigador de la FAUSAC.

## FERTILIZACIÓN DE PLANTACIONES FORESTALES

*Eddi Alejandro Vanegas Chacón<sup>1\*</sup>*

*Aníbal Sacbajá<sup>2\*</sup>*

*Boris Méndez Paiz<sup>3\*</sup>*



---

La aplicación de fertilizantes minerales en plantaciones forestales produce incremento substancial en la productividad de la mayoría de las especies forestales (Bowen & Nambiar, 1984; Binkley, 1993; Barros et al., 2004). No es práctica común para todas las finalidades de la producción forestal, pues modifica las características del rodal y la calidad de la madera, sin embargo, es utilizada ampliamente en países como los Estados Unidos Americanos, Canadá, India, Australia, Chile y Brasil en plantaciones de especies de rápido crecimiento con fines de producción de celulosa o de energía (Barros, 1990, Goncalvez, 1997). En nuestro país es una practica no utilizada en plantaciones comerciales, en algunos casos se ha utilizado en viveros de una forma empírica por lo que resulta ser un tópico de interés tanto de investigadores como de productores industriales del sector.

Este trabajo no pretende proporcionar un programa generalizado sobre fertilización forestal, más bien, describir los fundamentos en que se basa la recomendación de fertilizantes de manera que el profesional o técnico forestal pueda implementar el programa que satisfaga sus intereses productivos. Esto se debe a que la magnitud de la respuesta de las especies

forestales a la fertilización varía respecto al potencial de crecimiento del genotipo vegetal, la calidad de sitio, aumento del número de rotaciones, manejo, etc.

El principio fundamental que establece la necesidad de fertilización en una plantación forestal consiste en dimensionar la demanda nutricional de los árboles en el tiempo para alcanzar una producción esperada y la cantidad de nutrientes que el suelo puede aportar. Cuando la demanda de las especies forestales es mayor que la oferta del suelo, se debe adicionar fertilizantes para obtener la producción esperada. No obstante, la práctica ha demostrado que tal ecuación no es de fácil resolución (Blinkley, 1993; Barros et al., 2004), ya que la relación suelo-árbol es fuertemente influenciada por una serie de factores bióticos y abióticos, sumado al manejo forestal propiamente dicho.

La calidad edáfica expresada a través de la cantidad de materia orgánica, clase textural (componente arcilla) y los índices de fósforo y potasio en el suelo guardan estrecha relación con la disponibilidad de N, P, K y la productividad forestal (Bowen & Nambiar, 1984; Barros et al., 2004). El indicador utilizado como criterio para la recomendación de nitrógeno es la cantidad de materia orgánica (Goncalves et al., 1996; Tedesco et al., 2004), esto se debe a que más del 98% del nitrógeno se encuentra en la forma orgánica en el suelo y su mineralización dependerá de la interacción de factores bióticos y abióticos en relación a la calidad de la biología del sitio. En el caso de la recomendación para fósforo y potasio estos mismos autores se basan en el porcentaje de arcilla y la cantidad de fósforo y potasio del suelo.

Existe evidencia del uso de valores críticos de nutrientes en el suelo que son usados como referencia para la fertilización de especies forestales, donde el valor de fósforo es dependiente de la cantidad de arcilla, para otros nutrientes como el potasio, calcio y magnesio, el valor crítico varía con la productividad esperada (Novais, 1986). Dicha productividad incluye un aspecto fundamental en el estudio de las especies fo-

restales, la duración del ciclo de crecimiento. Lo anterior sirve de base para identificar valores críticos de nutrientes en dos etapas: establecimiento y mantenimiento. Para los nutrientes de baja movilidad en el suelo (P) el valor crítico decrece con la edad de la plantación, pero para elementos móviles en el suelo (N, Ca, Mg, S), los valores críticos aumentan.

### **Fertilización y relación suelo – árbol**

Los nutrientes para ser absorbidos por las raíces de las especies forestales tienen que estar en la solución del suelo, cuyo movimiento hasta la superficie radicular ocurre principalmente por difusión, flujo de masas y intercepción radical, procesos dependientes de la cantidad de agua en el suelo, que a su vez depende del suministro de agua, densidad aparente y textura del suelo (Tisdale & Nelson, 1985). La duración del ciclo aunado al hábito de crecimiento de las especies forestales dificulta la evaluación del aporte nutricional del suelo a lo largo de la rotación, lo que sugiere la realización del balance entre la demanda y la oferta nutricional, no sólo en el tiempo sino que también en el espacio. Barros et al., 2004 proponen evaluar la acumulación de los nutrientes en la biomasa de plantaciones forestales en una secuencia de edades y simultáneamente, muestrear el suelo a la profundidad explorada por el sistema radicular sometiéndolo a diferentes extractores. Esto para correlacionar el contenido de los nutrientes en los árboles con los determinados por medio de los extractores.

La selección del extractor dependerá de las propiedades físicas y químicas dominantes en la región (textura, pH, materia orgánica) condición edáfica y practicidad de manejo en los laboratorios de suelos. En el Brasil son utilizados los extractores de resina de intercambio aniónica y Mehlich-I para fósforo, Mehlich-I para potasio y KCl 1 mol L<sup>-1</sup> para Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>. En Guatemala se utilizan las soluciones extractoras Mehlich- I, Mehlich-III, Olsen Modificado, KCL y Acetato de Amonio, independientemente de las propiedades edáficas anteriormente

mencionadas debido a la variabilidad de suelos existentes. En Costa Rica se utiliza la solución extractora Olsen Modificado, en México se utiliza Olsen. Es decir que cada país ha adoptado una o varias soluciones extractoras de acuerdo a las características edáficas dominantes.

En lo que respecta a los árboles, la estimación de la demanda nutricional puede determinarse mediante curvas de acumulación de biomasa y de nutrientes de acuerdo con la edad de la plantación. Esto permite determinar la cantidad demandada para cada fase de crecimiento (adaptación y crecimiento inicial post-plantado; crecimiento de la parte aérea y radicular; y cerramiento de copas) y con base a la cantidad de nutrientes demandada en cada fase realizar el programa de fertilización. Generalmente, cuando las plantaciones forestales están en edad joven, la acumulación de nutrientes es mayor en relación a la acumulación de biomasa, ya que los nutrientes son necesarios para que ocurra el crecimiento. Así mismo, en edad joven los árboles presentan mayor proporción de biomasa en las hojas, ramas nuevas y raíces finas, componentes donde las cantidades de nutrientes son más elevados. Ya en edad adulta, regularmente después del tercer año, existe una rápida acumulación de biomasa en el tronco, ramas y raíces gruesas, componentes con menores cantidades de nutrientes. Los nutrientes de mayor movilidad son redistribuidos internamente en el árbol lo que conlleva al aumento de la eficiencia de la utilización de los mismos. A esto se suman los nutrientes que son ciclados vía biogeoquímica, cuyo resultado es una menor demanda sobre las reservas nutricionales del suelo, vía geoquímica.

### **Recomendación de fertilizantes**

La recomendación de fertilizantes es un proceso complejo, ya que requiere información sobre la calidad del suelo, el genotipo de las especies forestales y sus interacciones. Esta información es obtenida mediante la realización de investigación experimental secuencial a lo largo del ciclo de crecimiento de las especies forestales, por ejemplo en plan-

taciones, a nivel latinoamericano, Brasil cuenta con información que sirvió de base para elaborar tablas de interpretación de análisis de suelo con fines de fertilización para el t.ópico húmedo, *Eucaliptus sp* en Minas Gerais (Ribeiro et al., 1999); *Eucaliptus sp* y *Pinus sp* en São Paulo (Goncalvez et al., 1996); *Acacia sp*, *Araucaria sp*, *Eucaliptos sp* y *Pinus sp* en Río Grande del Sur y Santa Catarina (Tedesco et al., 2004).

Para determinar el o los nutriente a aplicar en la práctica de fertilización de especies forestales, el Laboratorio de Suelos de la Facultad de Agronomía propone preliminarmente las categorías de disponibilidad de nutrientes, las cuales están sujetas a cambios de acuerdo a la calibración en el campo. La calibración debe de realizarse para cada especie forestal en condiciones diferentes de fertilidad y sin limitaciones de factores bióticos y abióticos que afecten su crecimiento. Las cantidades a aplicar serán estimadas con base en las cantidades demandadas en cada etapa de crecimiento como se mencionó con anterioridad y los índices de disponibilidad de los nutrientes. La tabla 1, resume los criterios de interpretación del análisis de suelos, información que debe contrastarse con el análisis físico del suelo (textura, estructura, retención de humedad del suelo), genotipo vegetal y manejo silvicultural.

Tabla 1 - Interpretación de la cantidad de materia orgánica, fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca) y magnesio (Mg) en el suelo.

| Criterio | Materia Orgánica % | Criterio | P mg kg <sup>-1</sup> | K mg kg <sup>-1</sup> | Ca Cmol <sup>(+)</sup> kg <sup>-1</sup> | Mg Cmol <sup>(+)</sup> kg <sup>-1</sup> |
|----------|--------------------|----------|-----------------------|-----------------------|---|---|
| Bajo     | < 2                | Muy bajo | < 4                   | <30                   | <1                                      | <0.25                                   |
| Medio    | 3-5                | Bajo     | 4-8                   | 30-50                 | 1-2                                     | 0.25-0.50                               |
| Alto     | >5                 | Medio    | 8-12                  | 100-150               | 4-8                                     | 1-2                                     |
|          |                    | Alto     | 12-18                 | 150-200               | 8-12                                    | 2-4                                     |
|          |                    | Muy alto | >18                   | >200                  | >12                                     | >4                                      |

Materia orgánica = 1.72\*carbono orgánico según Walkey Black  
 Extractor para nutrientes: Mehlich-I y Acetato de amonio 1N. pH 7

La mayoría de las especies forestales responden a tres tipos de fertilización secuenciales, la de plantado, cobertura y reposición. La fertilización de plantado puede realizarse en el plato o en el surco donde las plántulas serán plantadas. En el primer caso, el fertilizante debe colocarse en el fondo del plato mezclándolo bien con la tierra, y en el segundo, el fertilizante es distribuido en el fondo del surco de plantado. La fertilización de cobertura complementa la de plantado y debe realizarse entre 3 y 6 meses después del plantado. En este caso el fertilizante debe distribuirse al lado de las plantas o en coronamiento, el fertilizante debe ser cubierto con tierra y acompañado de irrigación. La fertilización de reposición es realizada después de la retirada de madera por ocasión de las podas y raleos, por lo que dependerá del manejo silvícola.

### **La respuesta económica**

La fertilización mineral en plantaciones forestales se justifica por tres razones: la producción y la biomasa se incrementan y el periodo de inversión se reduce (Blinkley, 1993). Con frecuencia el valor de la biomasa que se incrementa es mayor que el simple aumento proporcional observado en el rendimiento, debido a que la biomasa adicional puede agrupar a los fustes en categorías de mayor valor económico. Cualquier incremento que se dé en el diámetro promedio del rodal produce aumento el valor del árbol por unidad de madera. Parte de este aumento se debe a un incremento en el valor de los fustes seleccionados de gran diámetro y parte resulta de agrupar a un mayor número de fustes de menor tamaño en categorías productivas de mayor valor. ¿Por qué esta oportunidad económica no se aprovecha en gran escala? Parte de la respuesta es simplemente que muchos productores desconocen la retribución potencial, o se muestran reticentes debido a la incertidumbre del grado de respuesta del crecimiento en función de la carencia de investigación experimental local que garantice un retorno económico apro-

piado en todos los sitios de producción, y no apenas, en aquellos de mayor calidad.

### **Perspectivas del uso de fertilizantes minerales**

En Guatemala, el cultivo de especies forestales a través de plantaciones ha experimentado un importante crecimiento durante los últimos diez años, debido a la implementación del Programa de Incentivos Forestales que contempla la Ley Forestal y que es ejecutado por el Servicio Forestal Nacional, el Instituto Nacional de Bosques -INAB-. El incentivo consiste en un subsidio otorgado por el estado a los propietarios de tierras de vocación forestal que decidan establecer plantaciones forestales. El monto total del subsidio se calcula en Q12,400 por hectárea pagado en un período de seis años, es decir durante la fase de establecimiento de la plantación, que incluye la preparación del suelo, la plantación de los árboles en el terreno bajo un arreglo espacial definido y el control de malezas durante los primeros años del rodal. El programa prioriza las áreas de Petén, las Verapaces, Izabal, El Progreso y Zacapa, las especies más utilizadas son: *Pinus caribaea*, *Gmelina arborea*, *Tectona grandis* y *Eucalyptus grandis* (INAB, 2006).

El establecimiento de plantaciones forestales constituye un importante cambio en la concepción productiva del sector forestal guatemalteco, ya que este tipo de plantaciones puede ser manejada intensivamente resultando en rotaciones cortas, mayor producción maderable por unidad de área, mayor uniformidad y previsibilidad del producto en relación a los bosques naturales, lo que se traduce en viabilidad económica y ambiental al reducir la presión sobre los bosques naturales. Sin embargo, la socialización de esta técnica conllevará irreversiblemente al deterioro de la calidad química de los suelos, debido a la exportación nutricional con el aumento del número de rotaciones en el mismo sitio, esto, aunado al manejo y conservación del suelo. Lo que presupone, en corto tiempo, demanda de conocimiento sobre técnicas e indicadores de la evaluación nutricional del suelo y de las plantaciones forestales, así como de criterios de fertilización mineral.

## LITERATURA CITADA

Barros, N.F. & Novais, R.F. 2004. Recomendação de fertilizantes minerais em plantios de Eucalipto. In: Nutrição e Fertilização Florestal. Gonçalves, J.L. & Benedetti, V. IPEF, Piracicaba. São Paulo. Brasil. p. 269-286.

Barros, N.F.; Neves, J.C.; Novais, R.F. 1990. Relação Solo-Eucalipto. Folha de Vicoso. Brasil. 430 p.

Binkley, D. 1993. Nutrición Forestal: prácticas de manejo. Uthea. México, D.F. 340 p.

Bowen, G.D. & Nambiar, E.K. 1984. Nutrition of Plantation Forest. Academic Press Inc. London. United King down. 516 p.

Gonçalves, J.L.; Barros, N.F.; Nambiar, E.K. & Novais. 1997. Soil and stand management for short rotation plantations. In: Nambiar, E.K. & Brown, A.G. Management of soil, nutrients and water in tropical plantation forest. Camberra, ACIAR. Australia. p. 379-417.

Gonçalves, J.L.; Raij, B. & Gonçalves, J.C. Florestais. In: Raij, B.; Cantarella, H.; Quaggio, J.A. & Furlani, A.M. (Eds). Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Campinas, Instituto Agrônomo de Campinas & Fundação IAC, 1996. p. 245-259.

Novais, R.F.; Barros, N.F. & Neves, J.C. 1986. Interpretação de análise química do solo para o crescimento e desenvolvimento de Eucalyptus sp. Níveis críticos de implantação e de manutenção. Rev. Arvore, 10:105-111.

Ribeiro, A.C.; Guimarães, P.T. & Alvarez, V.H. Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes para o estado de Minas Gerais: 5ª aproximação. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. 359 p.:il.

Tedesco, M.J.; Gianelo, C.; Anghinoni, I.; Bissani, C.A.; Camargo, F.A.; Wietholter, S. 2004. Manual de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. Comissão de Química e Fertilidade do Solo RS/SC. Porto Alegre. Brasil. 394 p.

Tisdale, S.L.; Nelson, W.L.; Beaton, J.D. 1995. Soil fertility and fertilizers. Mac Millan. New York. United States of America. 754p.

---

\*Profesores de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, especialistas en: <sup>1</sup> Suelos y nutrición forestal; <sup>2</sup> Edafología; <sup>3</sup> Silvicultura.

## SUELOS FORESTALES

*Eddi Alejandro Vanegas Chacón<sup>1\*</sup>*

*Boris Méndez Paiz<sup>2</sup>*



Las características y propiedades del suelo dependen de su material de origen, ubicación paisajística, de las condiciones climáticas y de la vegetación que lo recubre, determinadas por procesos pedogenéticos que actúan a través del tiempo. A largo plazo, lo que determinará su calidad será el grado de perturbación antrópica. El suelo puede conceptualizarse de conformidad con sus propiedades y funciones de acuerdo al área específica de su estudio, por ejemplo, ingeniería agrícola, forestal, civil y ciencias biológicas. El estudio categórico del suelo, es algunas veces cuestionado en la especificidad de sus propiedades y funciones, esto se debe a la concepción reduccionista de algunas escuelas del conocimiento, o a la falta de una concepción holística del estudio de las ciencias naturales.

Los suelos forestales, se definen como aquellos que fueron desarrollados sobre la influencia y, o que sustentan determinada vegetación forestal (Fisher & Binkley, 2000). De conformidad con esta definición, los suelos forestales ya cubrieron aproximadamente la mitad de los suelos sobre la superficie terrestre (excepto los denominados tundra, praderas, pantanos y desiertos). Actualmente, se estima que un tercio de los suelos de la

superficie terrestre pueden ser considerados como forestales (Gonçalves et al., 2002).

Son suelos formados a través del tiempo como resultado de la interacción con la vegetación forestal por lo que presentan características y propiedades intrínsecas. Este concepto es también utilizado para referirse a los suelos de bosques establecidos artificialmente (plantaciones forestales). En este caso, el término suelo forestal adjetiva el suelo explorado con plantaciones forestales, por tanto como una entidad con atributos propios, reflejando la relación bosque-suelo, considerando las diferencias estructurales y funcionales de este tipo de cobertura vegetal (Barros, 1990).

La naturaleza de las plantaciones forestales (como esencias nativas o exóticas) y sus efectos (intrínseco y extrínseco) sobre el suelo constituye uno de los indicadores de mayor ponderación en la clasificación de suelos según su vocación, criterio utilizado para el ordenamiento del uso de los suelos. Según el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (por sus siglas en inglés USDA), los suelos ubicados en la clase V tienen vocación exclusivamente forestal (forestación, reforestación y manejo de bosques naturales) y los de la clase VI, deben ser mantenidos permanentemente con vegetación natural, comúnmente, bosques nativos (USDA, 1975).

Varios son los países que como parte de sus programas de gobierno han creado y generado investigación sobre suelos forestales a través de sociedades científicas, tal el caso de los servicios forestales de los Estados Unidos de América, Canadá y Australia. En los Estados Unidos, existen disciplinas específicas sobre el tópico de "Suelos Forestales" en más de 70 universidades, entre las principales pueden mencionarse: North Carolina State University, University of Florida, Yale University, University of Georgia y Virginia Polytechnic Institute and State University. Constituye tópico de interés del desarrollo de la ciencia, una búsqueda simple con la expresión "forest soils" en la biblioteca de la "sciencedirect" muestra

más de 6,000 artículos científicos sobre este tópico en revistas tales como: Applied Soil Ecology, Biological Conservation, Forest Ecology and Management, Soil Biology and Biochemistry y Journal of Environmental Management.

A nivel nacional, el Sistema de Ciencia y Tecnología propone el área de conocimiento No. 6: Producción forestal y agroforestal que incluye la línea de investigación 6.3, Silvicultura de bosques naturales que comprende: la caracterización de especies con potencial comercial, determinación de uso de las especies secundarias de los bosques, clasificación de suelos forestales, investigación sobre el crecimiento y rendimiento de especies forestales y el desarrollo de técnicas silviculturales para el manejo integral y sostenible del bosque. Estos últimos tres tópicos, relacionados a los suelos forestales (CONCYT, 2006).

Los suelos forestales difieren de los suelos de vocación agrícola, si bien es cierto que ambas disciplinas tienen una base común en tanto se ocupan del cultivo de especies vegetales, existen una serie de aspectos que las diferencian y que han conducido a su estudio en disciplinas diferentes, la Silvicultura y la Agronomía, que tiene cada una conceptos y categorías particulares para el estudio del suelo y las especies vegetales. Esta diferenciación ha conducido a la formación de Escuelas Forestales y Agropecuarias en todo el mundo, en ese orden de ideas, a continuación se describen algunos de los aspectos que diferencian el manejo edáfico y aprovechamiento de ecosistemas forestales en relación a la producción agrícola.

**El Sitio forestal:** el conjunto de características de clima y suelo de una localidad se conoce en Silvicultura como "Sitio". Este es un concepto que permite diferenciar un lugar de otro en función de su potencial para el crecimiento de una determinada especie forestal. Varios son los indicadores que determinan la calidad de sitio, por ejemplo: pedoclima, susceptibilidad a la erosión, impedimento a la mecanización y deficiencias de agua o oxígeno. El sitio forestal puede ser clasificado mediante levantan-

tamientos pedológicos, crecimiento forestal "índice de sitio" y evaluación de su calidad física, química y biológica (Barros, 1990). Por tanto, el estudio de las condiciones de sitio permite elaborar modelos de crecimiento que pueden ser aplicados a una amplia gama de condiciones para una especie, haciendo posible la comparación entre localidades, y asimismo, predecir los rendimientos del bosque o plantaciones forestales tanto en productos maderables como de prestación de servicios ambientales.

**La Duración de la rotación:** las especies forestales tanto en bosques naturales como en plantaciones tienen ciclos largos, que van desde 5 a 10 años para producción de pulpa o energía; de 20 a 40 años para la producción de aserrío y hasta de 60 a 80 años, para especie de crecimiento lento como los Encinos, o especies nativas del bosque tropical húmedo (Caoba, Cedro, Manchiche y Santa María). La celeridad del crecimiento de las especies forestales, es función directa del potencial genético del material vegetal y de la calidad de sitio.

**La circulación de nutrientes:** debido a la estacionalidad de los ecosistemas forestales se posibilita la deposición continua de partes vegetales procedentes de los árboles como hojas, ramas, flores y frutos sobre el suelo, lo que induce a la formación de ciclos geo-bio-químicos que regulan la incorporación y descomposición de materia orgánica, contribuyendo al mantenimiento de una cobertura sobre el suelo, comúnmente llamada de "hojarasca", cuyo efecto sobre la calidad física (estructura, permeabilidad y capacidad de retención de agua), química (cantidad y disponibilidad de nutrientes) y biológica (biodiversidad) del suelo, es reconocida por varios autores (Bowen, G.D. & Nambiar, E.K. 1984; Binkley, D. 1993).

**Formación de un micro-ambiente:** las condiciones de luminosidad reguladas por el dosel del bosque o de las especies forestales plantadas, forman un microambiente, llamado también de microclima, favoreciendo las condiciones de sombra, temperatura y humedad regulando favorable-

mente la actividad microbiana del suelo resultando en una mayor eficiencia de los procesos de mineralización (Young, 1997).

**La resiliencia:** constituye la capacidad de los ecosistemas forestales para adaptarse a nuevas condiciones como producto de alteraciones naturales (inundaciones, vientos fuertes, fuego) o antrópicas. Estas alteraciones son claves en la definición de la estructura y composición del ecosistema forestal, dicha adaptación evolutiva está basada por la interacción de las especies forestales con el ambiente, destacándose el efecto mutualista y alelopático (Gonçalves & Benedetti, 2000).

### **Conclusión**

La clasificación categórica del suelo, que incluye a los llamados suelos forestales es reconocida por Asociaciones Internacionales de Estudio del Suelo. Debe ser estudiada e investigada como tal, para generar y posteriormente consensuar la aplicabilidad de técnicas que permitan el manejo holístico de los suelos en analogía "a la condición natural" para garantizar el uso sostenible de los bosques naturales y/o plantaciones forestales del país.

### **Bibliografía**

Barros, N.F.; Neves, J.C.; Novais, R.F. 1990. *Relação Solo-Eucalipto. Folha de Vicosá. Brasil.* 430 p.

Binkley, D. 1993. *Nutrición Forestal: prácticas de manejo.* Uthea. México, D.F. 340 p.

Bowen, G.D. & Nambiar, E.K. 1984. *Nutrition of Plantation Forest.* Academic Press Inc. London. United King down. 516 p.

CONCYT. Líneas de investigación. In: <http://www.concyt.gob.gt>. Consultada en Octubre de 2006.

Fisher, R.F. & Binkley, D. Ecology and management of forest soils. New York: John Wiley & Sons. 2000. 489 p.:il.

Gonçalves, J.L. & Benedetti, V. Nutrição e fertilização florestal. Piracicaba: IPEF., 2000. 427 p.:il.

Gonçalves, J.L. Principais solos usados para plantações florestais. In: Gonçalves, J.L. & Stape, J.L. (Eds). Conservação e cultivo de solos para plantações florestais. IPEF. Piracicaba, SP. 2002. p.1-47.

Sciencedirect. In: <http://www.sciencedirect>. Consultada en Octubre de 2006.

USDA. Soil Taxonomy. Agricultural Handbook No. 436. Washington, D.C. U.S.A. 1975. 753 p.

Young, A. Agroforestry for soil management. New York: CAB International., 1997. 269p.

---

\*Profesores de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, especialistas en: <sup>1</sup> Suelos y nutrición forestal; <sup>2</sup> Silvicultura.