



# Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS



BIBLIOTECA  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA  
UNAM

ESTUDIO DEL EFECTO DE Pteridium aquilinum  
EN ALMACIGOS Y VIVEROS DE CAFE  
Coffea arabica var. Mundo Novo

## TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el título de

**B I O L O G O**

presenta

**JOSE LUIS LOZANO ROMERO**

MEXICO, D. F.

1982



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTUDIO DEL EFECTO DE Pteridium aquilinum

EN ALMACIGOS Y VIVEROS DE CAFE

Coffea arabica var. Mundo Novo



EXAMENES  
PROFESIONALES

## CONTENIDO

i

### Antecedentes

Clasificación y sistemática de <u>Pteridium aquilinum</u>	1
Posibles efectos sobre la sucesión y el papel alelopático de <u>p. aquilinum</u>	7
Estudios toxicológicos y la carcinogenicidad de <u>p. aquilinum</u>	17
Compuestos identificados a partir de <u>p. aquilinum</u>	26
Compuestos fenólicos	29
Inhibidores de la germinación y reguladores del crecimiento en relación a <u>p. aquilinum</u>	35
<u>p. aquilinum</u> como maleza persistente y su control químico y biológico	40
Observaciones preliminares sobre <u>p. aquilinum</u> en el cultivo del café	44
Objetivo de este trabajo	49

### Materiales y Métodos

#### Pruebas de laboratorio

Preparación de las fracciones a ensayar	51
Pruebas de germinación	54
Clases de semillas y condiciones de germinación	55

#### Pruebas de campo

Características climáticas y ubicación de la zona de trabajo	57
Pruebas de campo en almácigos	59

## Pruebas de campo en viveros

Tratamientos	61
Modelo utilizado, diseño experimental y análisis estadístico de resultados	63
Determinación del tamaño óptimo del vivero experimental	65
Número de repeticiones de cada unidad experimental	72
Arreglo de Bloques y aleatorización de las unidades experimentales	82
Pruebas de F planeadas	84
Análisis de los requerimientos del análisis de varianza	87

Resultados

Caracterización tentativa de los componentes de las fracciones obtenidas de <u>p. aquilinum</u>	90
Pruebas de germinación en el laboratorio	93
Pruebas de campo en almácigo	101
Pruebas de campo en vivero	105
1a. Medición	
Alturas	110
Grososres	114
Cociente Altura/Grosor (i.e.r.)	116

2a. Medición	
Alturas	120
Grosos	124
i.e.r.	126
Porcentaje de infección por hongos	128
3a. Medición	
Alturas	129
Grosos	130
i.e.r.	132
Porcentaje de infección por hongos	134
4a. Medición	
Alturas	135
Grosos	137
i.e.r.	138
Resumen de Resultados del Análisis Estadístico	139
<u>Discusión y conclusiones</u>	140
<u>Resumen</u>	147
Bibliografía	154
Apéndice de Métodos Estadísticos	178
Intervalos de confianza para el coeficiente de variación	179
Prueba de Normalidad	180

$X^2$ para la diferencia entre proporciones	183
Prueba de Kruskal - Wallis	185
Prueba de 'U' de Mann - Whitney	188
$X^2$ de Bartlett para la homogeneidad de $s^2$	190
Separación de Medias por Diferencia	
Significativa Mínima	192

El trabajo experimental de este proyecto fue financiado por el CONACYT y se contó con la asesoría y colaboración técnica del INMECAFE para el montaje del almá-cigo y el vivero experimental.

## PREFACIO

El objetivo de este trabajo, en su parte experimental, es el estudiar el efecto que puede ejercer el uso de Pteridium aquilinum con respecto al de hojas de Musa ap., en la cobertura de almácigos y viveros, sobre las plantas de café cultivadas en ellos.

El carácter de maleza del helecho Pteridium aquilinum en pastizales es, probablemente, el aspecto más conocido de esta Pteridofita. Sin embargo, existe una gran cantidad de trabajos publicados describiendo otros aspectos de gran importancia, que son menos conocidos. Los principales son su toxicidad para animales y su aparente importancia sobre la sucesión de las comunidades donde se encuentra Pteridium aquilinum.

En la primera parte de este trabajo se revisa la literatura existente sobre estos aspectos.

## ANTECEDENTES

CLASIFICACION Y SISTEMATICA DE PTERIDIUM AQUILINUM

La clasificación de este helecho (Crabbe Jeremy, 1975,; Tryon, Jr.1941) es la siguiente:

Orden: Filicales; Familia: Dennstaedtiaceae; Genero: Pteridium

Especie: aquilinum, con doce variedades: africanum, arachnoideum (°), caudatum (°), pseudocaudatum, decompositum, esculentum, Feei (°), latiusculum (°), pubescens (°), typicum, Wightianum y yarrabense.

Siendo las variedades pubescens y la latiusculum las utilizadas en este trabajo.

Caractères de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn .- Posee rizoma subterráneo, muy extendido y con numerosas ramificaciones, cubierto con pelo pero no de escamas. El estele es un senostele perforado con vasos verdaderos; las frondas son alternadas y grandes, el estipe es relativamente largo, los haces vasculares son numerosos; la pina es generalmente tripinada, la pínula inferior posee nectarios en la base; los segmentos son muy numerosos y van desde ovals a rectos, el margen está doblado sobre la superficie inferior, con soros marginales continuos; los esporangios se encuentran entre el inducio exterior, el margen modificado del segmento y el inducio interno, las esporas son de color café, finamente espiculadas, globoso tetrahédricas. Esta representado por una sola especie cosmopolita,

(°) = son especies reportadas para México.

que se encuentra en regiones templadas y tropicales. Desde un punto de vista filogenético, Pteridium posee una peculiar combinación de caracteres externos que son primitivos y de caracteres internos relativamente avanzados (Tryon, Jr. 1941.). Es considerado primitivo en base a los siguientes caracteres (Bower, 1928.): Presencia de un inducido interno más o menos vestigial, sucesión basipétala inicial de los esporangios, no posee escamas en el rizoma, posee una dicotomía simétrica del eje en los primeros estadios de desarrollo y tiene venación abierta.

Por otra parte, la altamente desarrollada estructura del tallo y del peciolo, junto con la presencia de vasos verdaderos, indica su condición avanzada. El desarrollo de la estructura interna podría estar relacionada, por lo menos en parte, con la talla relativamente grande de la planta.

El helecho P. aquilinum es filogenéticamente una especie muy antigua (Zwoelfer, 1973,; Page, 1976.). Se le puede encontrar en gran parte de Europa, Asia, en Australia, Nueva Zelanda, en las altiplanicies de África, también en América del Sur y del Norte, así como en muchas islas tropicales (Curtis, 1959.; Zwoelfer, 1973,; Cody y Crompton, 1975)

Algunos caracteres de la variedad pubescens son: La punta del rizoma posee pelos oscuros; la fronda es de 0.3 a 5.0 m, generalmente de 0.8 a 2.0 m, las puntas de las pinulas superiores aún no se encuentran completamente desenrolladas cuando las pínulas inferiores lo están completamente; el estipe es generalmente más corto que la pina, las pinas son de 0.2 a 4.0 m, generalmente de 0.6 a 1.0 m, son ovalado triangulares, ocasionalmente pentagonales u ovaladas, no están dispuestas de tres en tres,

son tripinadas o tripinadas-pinatífidas; el raquis es de escasa a moderada pubescencia; las pínulas y las pinas son de implantación subaguda a obtusa, las pinunas se encuentran casi en ángulos rectos con respecto a la costa, algunas veces oblicuas; las costulas son de poca a moderada pubescencia en la parte inferior y menos en la superior; los penúltimos segmentos son frecuentemente pinatífidos, menos frecuentemente pinados o pinado-pinatífidos, los últimos segmentos son generalmente rectos, adnados o más anchos en la base; la superficie superior es de poco a muy pubescente, por lo menos cerca del margen; la nervadura central es generalmente glabra y el margen moderadamente pubescente, la superficie interior es, en general, densamente pubescente, y menos frecuentemente ligeramente pubescente, raramente glabra a excepción de la nervadura central; el inducio fértil es generalmente ciliado y poco pubescente en la superficie externa, rara vez se torna glabro con la edad de la planta, el inducio estéril es ciliado y algunas veces también pubescente en la superficie exterior; el inducio fértil es generalmente de 0.25 a 0.3 mm de ancho, la porción estéril es de 0.25 mm o menos de ancho; la porción fértil es más ancha que la estéril en el mismo segmento.

La variedad pubescens crece en pastizales, bosques abiertos, áreas que han sido quemadas o laderas expuestas y desde zonas muy húmedas hasta lugares secos, desde el nivel del mar hasta los 3 000 m. s. n. m. y desde el sur de Alaska hasta México.

La variedad pubescens difiere de la variedad latiusculum en que la primera tiene en la punta del rizoma un grupo de pelos oscuros. Esta es desnuda en la variedad latiusculum. Además, la pinación es homogénea y ovaltriangular y no es muy ancha o dispuesta de tres en tres. Las pinas se disponen en ángulos casi rectos con respecto a la costa, más que en un ángulo oblicuo; la superficie inferior es densamente pubescente entre el margen y la nervadura central, en lugar de ser pubescente sólo en la nervadura central; el inducio fértil y estéril son ciliados y algunas veces pubescentes más que glabros.

La variedad pubescens está cercanamente relacionada con las variedades Feei y descompositum. La variedad latiusculum crece en pastizales, bosques, laderas expuestas, en campos abandonados o que han sido quemados, en áreas húmedas y más frecuentemente en los secos. Se ha reportado desde el nivel de mar hasta alturas de 2,000 m.

Entre las muchas especies de helechos que se desarrollan por medio de rizomas, P. aquilinum es considerado como una maleza muy persistente (Hoskin, 1973). Posee un rizoma que puede ser muy extenso y profundo, con un gran número de botones latentes de los que cada año se originan nuevas frondas.

Además de su carácter de maleza, el helecho P. aquilinum contiene sustancias tóxicas para plantas y animales. Acerca de este aspecto existen numerosas revisiones, por ejemplo la del Agricultural Research Council,

U.K. (1976) o la publicada por Fletcher (1978). El potencial fitotóxico de P. aquilinum es discutido por Gliessman y Muller (1972), ver la sección 'Posibles efectos sobre la sucesión y el papel alelopático de P. aquilinum' de este trabajo.

Watt, en 1947 (Krebs, 1978) aparentemente fue el primero en observar un efecto de disminución del desarrollo de p. aquilinum. Al estudiar el proceso de invasión por este helecho a un pastizal, encontró un frente de colonización más vigoroso. El tamaño de las frondas desarrollándose en áreas ocupadas previamente era menor. La adición de fertilizantes en éstas no tuvo efecto y no pudieron ser detectados cambios edafológicos que explicaran esta reducción del vigor de las frondas. Posteriormente en su artículo 'The Ecological Status of Braken', Watt (1975), estudia la producción y acumulación de residuos orgánicos del helecho en relación al comportamiento de las frondas. Concluye que la influencia de estos residuos es cada vez mayor a medida que estos se acumulan. - "Siendo una víctima de su propio desarrollo, la degeneración local abre el camino para la entrada de otras especies " - concluye.

Este helecho no solo invade pastizales; un gran número de otros cultivos son afectados y hace que p. aquilinum sea considerado como una maleza tipo arbustivo de importancia económica (Bascand, 1973).

Probablemente la característica que determina el carácter de maleza de este helecho, sea su amplio rango de estrategias adaptativas (Grime, 1977), i.e. bajo stress, poca perturbación (plantas competitivas); alto stress,

poca perturbación (plantas tolerantes de stress); bajo stress, alta perturbación (plantas ruderales). Por ejemplo, se le puede encontrar en Escocia, donde se tratan con herbicidas 40 500 hectáreas, que representan aproximadamente el 25 % de la cobertura total de P. aquilinum, para combatirlo (Nicholson y Paterson, 1976); en Nueva Zelanda, donde presenta problemas para la silvicultura (Watt y Tustin, 1975.); en la India, en cultivos de té (Roa, et al. 1977) o en Colombia, donde es una de las malezas más frecuentes (Doll, et al. 1977). Se puede encontrar una revisión de la ecología fitoquímica de este helecho hecha por Cooper-Driver y Swaint (1976).

POSIBLES EFECTOS SOBRE LA SUCESION Y EL PAPEL ALELOPATICO DE  
PTERIDIUM AQUILINUM

El papel de la alelopatía como un factor importante en procesos ecológicos es reconocido ampliamente (Muller, 1960 y 1966.; Bonner, 1950.; Rice, 1974.; Whittaker, 1970.). La alelopatía es el proceso por el cual una planta libera al medio un compuesto químico que inhibe el crecimiento de otra planta del mismo hábitat o de uno contiguo. A diferencia de la competencia, que es el proceso por el cual una planta reduce el nivel de un factor necesario, en detrimento de otra planta que comparte el mismo hábitat (Muller, 1969). Es posible que los efectos alelopáticos tengan un pronunciado efecto sobre la sucesión (Muller, 1969), en un amplio aspecto de tipos de hábitats (Gliessman, 1976.), en especial como ha sido observado para P. aquilinum.

Según Muller (1969), si un colonizador es más efectivo para suprimir a los ocupantes previos que en autoinhibición, una sucesión tiene lugar. Considerando la gran potencia de la alelopatía como un mecanismo de dominancia y colonización, el efecto que ésta pueda tener sobre la composición de las comunidades parece ser de gran importancia.

Se considera que la alelopatía es el mecanismo básico por el cual Pteridium aquilinum ha adquirido y mantenido la dominancia en una amplia variedad de tipos de vegetación en todo el mundo (Gliessman, 1976). Las toxinas

proviene de las frondas frescas y de las que están siendo degradadas, así como de los rizomas muertos.

Las toxinas son muy hidrosolubles, pueden ser completamente extraídas después de 48 horas en agua destilada, en el laboratorio.

La liberación de fitotoxinas, en condiciones naturales, coincide con el advenimiento de las lluvias en climas subtropicales o tropicales, o con la primavera, al ser derretida la nieve en climas con un invierno pronunciado (Gliessman, 1976). En el mismo trabajo, Gliessman (1976), reporta que la liberación de toxinas ocurre durante todo el año en Costa Rica, con un clima tropical y con un crecimiento continuo de las plantas asociadas, donde la liberación ocurre principalmente a partir de las frondas frescas. Existen numerosos ejemplos de interacción planta-planta que hacen que se considere la alelopatía como un factor ecológico importante.

Mientras que las "agrupaciones" o "asociaciones" más grandes son, fundamentalmente climática y edáficamente condicionadas (bosques, pantanos, estepas, etc.), las agrupaciones más pequeñas, en íntimo contacto o las comunidades diferenciadas dentro de áreas edafo-climáticas homogéneas, se debe basar en otro tipo de control (Went, 1970). Por ejemplo, el Noroeste de México, en los desiertos existen muy pronunciadas correlaciones entre ciertos matorrales y hierbas: Rafinesquia neomexicana, una compuesta anual, se desarrolla pobremente en desierto abierto, pero lo hace vigorosamente bajo una cubierta de Krameria canescens y Franse-

ria dumosa y no se le encuentra bajo matorrales de Larrea divaricata o Encelia farinosa; por otra parte Lepidium fremontii, Delphinium parishii y Phacelia tanacetifolia se encuentran más frecuentemente bajo Larrea divaricata (Went, 1942).

Existe una buena evidencia de que por medio de la secreción de ácido transcinámico, el guayule, Parthenium argentatum, inhibe el crecimiento de otras plantas en su medio ambiente (Went, 1970).

El papel de la alelopatía sobre la configuración de la vegetación, así como su impacto en la agricultura, discutido ampliamente por Rice (1974), puede ser determinante en muchos casos.

Los efectos alelopáticos pueden ser selectivos, como en el caso de la sustancia liberada por Juglans nigra, la juglona (Brooks, 1951) que favorece al pasto Kentucky blue, inhibe a la alfalfa (lucerne) y no afecta al maíz.

El falso lino, Camelina alyssum, reduce el crecimiento del lino por medio de la liberación de ácidos fenólicos (para-hidroxibenzóico, vainílico y ferúlico), (Whittaker, 1970).

En la comunidad tipo chaparral, Arctostaphylos glauca y A. glandulosa liberan sustancias alelopáticas que incluyen a la arbutina, un glucosido de la hidroquinona y el ácido fenólico para-hidroxicinámico (Muller, 1968). Otros compuestos alelopáticos incluyen al 3 - acetil - 6 - metoxibenzaldehído, proveniente de Encelia farinosa (Bonner, 1950) o de los enumerados por Whittaker, (1970): Furanocumarinas (de Thamnosoma montana), el alcaloide absintina (de Artemisa absinthium), los ácidos

clorogénico, para-cumarilquínico y gentísico (de Eucaliptus globulus), el ácido para-ascórbico (de Sorbus aucuparius), la amigdalina, el ácido hidrocianico, además benzaldehído, la cumarina scopoletina y el ácido transcinámico.

Dentro de las sustancias liberadas por Aristida oligantha y otras especies de pastos anuales, los ácidos galatónico, gálico y clorogénico, mostraron ser inhibidores de plantas superiores y de bacterias (Rice, 1965). En muchos casos, la liberación de compuestos alelopáticos es una consecuencia de la muerte del organismo y de su degradación, más que por exudados; entre estos productos se encuentran prominentemente los ácidos para - hidroxibenzoico, vainillico, ferílico y paracumárico; los ácidos fenólicos más comunes pueden estar asociados a transformaciones por las bacterias del suelo (Whittaker, 1970), éstas pueden ser:

cumárico  $\longrightarrow$  hidroxibenzoico  $\longrightarrow$  benzoquinona  $\longrightarrow$  hidroquinona  
o bien

ácido ferílico  $\longrightarrow$  ácido vainillico

Estas sustancias tan comunes en el suelo (Whittaker, 1970.), en pruebas de laboratorio se muestran como inhibidores de la germinación y del crecimiento.

Los tipos de compuestos que pueden producir efectos alelopáticos incluyen a los ácidos fenólicos, cumarinas, terpenos, aceites esenciales, alcaloides y cianuros orgánicos (Glass, 1976.; McPherson, et al. 1971.; Whitehead, 1964.; Whittaker, 1970). Así las sustancias que pueden producir

efectos alelopáticos son virtualmente de una ocurrencia universal. Las rutas bioquímicas y la ocurrencia de este tipo de compuestos es señalada por Goodwin, (1976).

Los tipos de sustancias alelopáticas mencionadas se conocen como metabolitos secundarios. Estos no son, hasta donde se conoce actualmente, componentes esenciales para el metabolismo de las plantas.

A diferencia de Whittaker (1970). Muller (1966) considera que su ocurrencia es esporádica e irregular, pero que su presencia en plantas con relaciones filogenéticas distantes, sugiere que han evolucionado independientemente, probablemente asociada a otras ventajas selectivas.

Dawes y Maravolo, (1973), estudiaron el papel de Hieracium aurantiacum como dominante en las praderas del norte de Wisconsin, donde también se presenta P. aquilinum. Los extractos del suelo donde se había desarrollado Hieracium aurantiacum mostraron, por cromatografía, la presencia de siete compuestos fenólicos. Tres de estos fueron tentativamente identificados como los ácidos ferúlico, vainílico y umbeliferona. En este mismo trabajo, los autores encuentran que los bioensayos con Abies balsamea, Lactuca sativa y Pinus strobus demostraron consistentemente la presencia de varios inhibidores, activos sobre la germinación y sobre el crecimiento del hipocótilo. Dos de los compuestos no fueron fenólicos y las otras fracciones estuvieron correlacionadas con compuestos fenólicos.

En una comunidad tipo pradera, helecho - pastizal (Curtis, 1959.), dominada por Pteridium aquilinum y los pastos Danthonia spicata, Bromus kalmii,

Agropyron trauchycaulum y Oryzopsis asperifolia, Levy (1970), explica que la estabilidad de la comunidad, desde 1800 y que ha permanecido libre de arboles, se debe a la introducción de una agente químico por las plantas establecidas, que es "detrimente" de otras especies. Ha sido demostrado cierto grado de actividad alelopática en el helecho Pteridium aquilinum (Levy, 1970.; Whitehead, 1964).

Estas observaciones, junto con los efectos alelopáticos descritos para varios géneros más de plantas, que constituyen a la comunidad helecho-pastizal (Curtis, 1959.), tienen probablemente una profunda influencia sobre la sucesión y la estabilidad de la misma (Dawes, 1973.). Los árboles que invaden a esta comunidad son principalmente Populos grandidentada y P. tremuloides. Abies balsamea y Pinus strobus se observan con menor frecuencia.

Las dos especies de Populos no se desarrollan a partir de semillas sino a partir de reproducción vegetativa.

En resumen, la alelopatía tiene efectos sobre la sucesión principalmente en los siguientes aspectos (Whittaker, 1970.):

- a) Acelerando el reemplazo de una especie por su sucesora,
- b) Por la supresión de la especie original por una colonizadora,
- c) Retardando el reemplazo de especies por efecto alelopático directo de la especie dominante sobre el colonizador potencial,
- d) Por efectos indirectos de partes en descomposición o por inhibición de los microorganismos del suelo, y

- e) Influyendo sobre la secuencia de la sucesión por efectos alelopáticos específicos, lo que determinaría qué especies pueden invadir a la comunidad y reemplazar a las anteriores.

El potencial alelopático de Pteridium aquilinum ha sido discutido por varios autores, por ejemplo Steward, (1975), Glass, (1976), Glieman, (1978) o Horsley, (1977) entre otros.

En el trabajo de Steward (1975), se probaron en el laboratorio extractos acuosos de frondas senescentes de P. aquilinum, variedad pubescens, encontrándose que reducían la germinación de Rubrus parviflorus, pero no afectó a las semillas de Pseudotsugamenziesii (pino Douglas) y retrasó la de Rubrus spectabilis. En experimentos de invernadero, los residuos de P. aquilinum incorporados al suelo, disminuyeron la longitud de los tallos y el peso seco total de las dos especies de Rubrus. Steward señala que la relativa ausencia de especies arbustivas, como las señaladas anteriormente, en sitios dominados por Pteridium aquilinum podría ser explicada por interacciones alelopáticas.

Una demostración especialmente interesante proviene de ensayos en campos de cultivo de té en la región subtropical de Georgia, en la Unión Soviética (Purtskhvanidze, 1973). Los ensayos fueron realizados de 1969 a 1971 en un suelo podzólico amarillento ácido, mezclando Pteridium aquilinum con el suelo del cultivo a razón de 40 toneladas, peso fresco, por hectárea. Este tipo de práctica de cultivo redujo la infestación por malezas del campo

de cultivo, especialmente por perennes, mejoró la capacidad de retención de agua en el suelo e incrementó el rendimiento de hojas de té en un 15 % durante los tres años que duró la observación.

La competencia por humedad, luz y nutrientes, por sí misma, no puede explicar la carencia de otras malezas en los lugares con P. aquilinum; la uniformidad del pH del suelo, textura y capacidad de retención de agua, eliminó a la variabilidad de los factores físicos como una de las posibles causas (Gliessman y Muller, 1978).

Las fitotoxinas solubilizadas de las frondas recién muertas por las primeras lluvias de la estación, fueron responsables de la supresión de las malezas; estas fitotoxinas no son liberadas si antes de las primeras lluvias las frondas son removidas. Gliessman y Muller observaron que después de varias estaciones, posteriormente a la remoción de frondas, hubo reinvasión por otras malezas. Además, la colocación de frondas sobre malezas, provocó la inhibición de éstas en partes del pastizal donde no se encontraba P. aquilinum previamente. Así, P. aquilinum ejerce una fuerte dominancia sobre las plantas asociadas en una gran variedad de condiciones en todo su rango de distribución (Gliessman, 1976.).

El papel que los fenómenos alelopáticos desempeñan en la sucesión puede ser muy significativo (Hanawalt, 1971.; Abdul - Wahab y Rice, 1967.; Went, 1942.; Rice, 1965.; Vázquez et al., 1968.; del Moral y Muller, 1969.). El papel de las fitotoxinas en la interferencia sobre plantas aso-

ciadas a P. aquilinum puede ser un buen ejemplo de lo anterior.

Gliessman (1972) reporta que en bosques perturbados P. aquilinum se comporta como un fuerte competidor que inhibe el crecimiento de todas las especies asociadas, por medio de la liberación de compuestos químicos durante su desarrollo. Siendo una especie ubicuita de climas tropicales y templados, P. aquilinum ha presentado problemas para la reforestación de bosques tropicales y templados (Oldenkamp, 1971.).

El establecimiento de colonias de P. aquilinum en un habitat tropical, parece estar correlacionado con los incendios, (Gliessman, 1976).

Marceau y Reid (1976), reportan un vigor reducido de las especies asociadas a P. aquilinum, en comunidades dominadas por este helecho. La remoción de P. aquilinum puede provocar el incremento del número y porcentaje de especies presentes en un pastizal, (Sparke, 1979.); las especies asociadas a Pteridium en este tipo de comunidad son Agrostis tenuis, A. stolonifera, Festuca rubra, Galium saxatile y Holcus mollis. En zonas que fueron despejadas de P. aquilinum por medio de herbicidas, Sparke (1979) observó una mayor cantidad de especies y una mayor población de semillas, la que se mantuvo aún después de la recolonización por P. aquilinum, ésta incluía Juncus effusus, J. bufonius, Gnaphalium uliginosum, Poa annua, Polygonum aviculare, Rumex spp., Stellaria media y Veronica spp.

El reporte anual de 1979 del West of Scotland Agricultural College, U.K., coincide en observar modificaciones sobre las especies asociadas a P. -aquilinum, antes y después de su control con herbicidas. En este reporte se señala a Agrostis spp. y a otros pastos como asociados a P. aquilinum.

Los extractos de P. aquilinum parecen afectar también a la germinación de semillas de algunos pinos (pino - G y de Larch - G), (Konovolon y Luganskii, 1968.).

ESTUDIOS TOXICOLÓGICOS Y LA  
CARCINOGENICIDAD DE PTERIDIUM AQUILINUM

El helecho P. aquilinum forma parte de la dieta humana en varios lugares del mundo. Se consumen los rizomas o las frondas jóvenes. Apparently ya formaba parte de la dieta de los primeros pobladores del Continente Americano (Norton, 1979.). Es mencionado en varios libros como una planta comestible (Medsger, 1939.; Stratton, 1943.; Fernald, 1943.). En el estado de Veracruz, México, los rizomas son comidos por humanos en varias localidades.

Por otra parte, existe una gran cantidad de publicaciones que describen una muy alta toxicidad para animales alimentados con rizomas o frondas de este helecho. La primera publicación detectada acerca de la toxicidad de Pteridium aquilinum describe la patología de la hematuria en ganado bovino en Turquía en 1955 (Pamukcu, 1955.). Posteriormente, Pamukcu describe tumores en la vejiga urinaria (Pamukcu, 1962) y describe su epidemiología (Pamukcu, 1963).

La literatura existente en Turquía, Japón, Australia y varios países de América, describen a esta planta como productora de toxicidad para el ganado y varios animales de laboratorio. Para 1964, este helecho es ya ampliamente reconocido como una planta tóxica (Kings, 1964).

La incorporación de Pteridium aquilinum en la dieta de ratas induce anorexia y polineuritis, un síntoma aliviado por la administración de Tiamina (Widdop, 1967). Se reportan en los animales afectados bajos

niveles de tiamina en los tejidos y elevados niveles de ácido pirúvico en sangre; otros animales también sucumben a la avitaminosis por vitamina B<sub>1</sub>, en particular el caballo y el cerdo. (Widdop, 1967).

El problema de la toxicidad ha sido objeto de varias revisiones, (Sorenson, 1972.; Evans, 1973.; Bennedick, 1975.; Agricultural Research Council, U.K., 1976.; Fletcher, 1978.). El problema toxicológico humano es revisado por Hodge, (1973), en relación con los helechos consumidos en Japón.

Pteridium aquilinum puede provocar endemismos de fiebre hemorrágica en bovinos, (Kitahara, 1974). Los síntomas típicos son fiebre prolongada, derrames en mucosas, hemorragias internas y externas, diarrea y falta de estabilidad en las patas traseras; posteriormente se detecta peristaltitis y disfunción de la rumiación, las membranas se ven pálidas y se produce disfunción cardiaca. Durante este proceso, el tiempo de coagulación aumenta; la densidad de plaquetas, eritrocitos y granulocitos disminuye y la de linfocitos se incrementa; los niveles de globulinas séricas y de magnesio aumentan, mientras que los de albúmina sérica y calcio disminuyen. La cantidad de células hematopoyéticas en médula ósea decrece y la de leucocitos aumenta. Se detectó en todos los animales la degeneración de los tejidos del hígado, riñón, vaso y tejido linfático. Se presentó hemorragia y ulceración generalizada de mucosas. Se detectó un aumento del número de mitosis en tejidos linfático hematopoyético y en apitelio intestinal (Kitahara, 1967 y 1974.; Tustin, et al. 1968.;

MacLean, et al. 1970.; Costa, 1973.; Inui, et al. 1974. ; Rosas, 1974.; Rankin, 1974.; Pizarro, 1974.; Mueller, et al. 1975.; Yamane, 1975 a y b.; Maeda, 1978.; Hayashi, et al. 1979.).

Los organismos afectados, además del ganado bovino, son numerosos. Widdop (1967) reporta intoxicación de ovejas y cabras; Andrade, et al. (1977), detectan toxicidad en caballos; en ratas (Newberne, 1976.) ratones (Yasuda, et al. 1974) y puercos (Evans y Widdop. 1972.; Harding, 1972). Otros síntomas de la intoxicación por p. aquilinum son trombocytopenia en ratas y bovinos (Philip, et al. 1967.; Foster, et al. 1968.) y degeneración progresiva de la retina en ovejas (Watson, et al. 1970, 1972; 1972 b.).

La cantidad de p. aquilinum que es ingerida por bovinos en condiciones naturales de pastoreo es dependiente de la palatabilidad de la flora acompañante. Si ésta es constituida por especies adecuadas como Miscanthus spp., Lespedeza bicolor o Sasa spp., la ingestión de p. aquilinum no sobrepasa a los 20 gramos por día por cabeza; pero si no existe suficiente forraje adecuado el consumo por animal por día puede alcanzar a 2 kilogramos (Hayakawa, 1972).

Los envenenamientos por Pteridium pueden llegar a ser el 75 % de todos los casos observados (McAuliffe, 1976.). McAuliffe reporta a Lythrum hyssopifolia, a las micotoxosis, a Chenopodium pumilio y a las algas presentes en el agua de los abrevaderos como los causales del resto de las intoxicaciones.

Se ha detectado el pasaje de la toxicidad a la leche producida por ganado alimentado con P. aquilinum (Evans, et al. 1972.a) por lo que se considera muy importante el estudio de la biología de este helecho. Ha sido intentado aliviar la intoxicación por medio de fenotiazida (Idrus, 1977.). y dosis elevadas de tiamina (Kings, 1964.; Widdop, 1967.; Somogyi, 1969 y 1971.).

Así mismo, han descrito efectos citotóxicos de derivados de la Indanona extraídos de P. aquilinum sobre ratas y erizos de mar, Anthocidaris crassispina, así como carcinogénesis de estas fracciones (Saito, 1975.; Kobayashi, et al. 1980).

Han sido reportados otros dos efectos producidos por P. aquilinum sobre animales: una actividad antitiamínica y un efecto de liberación de histaminas.

La inyección intraperitoneal en ratas de extractos acuosos, aumenta la permeabilidad capilar, siendo reversible a la aplicación de antihistamínicos (Ishii, et al. 1974 y 1979.). Los extractos acuosos contenían beta-glucosidos (Saito, et al. 1979).

La actividad antitiamínica aparentemente fue reportada desde antes de 1956. En esta fecha, Hasenawa, E. sugiere que el compuesto activo, presente en P. aquilinum es un flavonoide (Somogyi, 1971.). En 1969, Somogyi describe la conexión entre la estructura química y la actividad antitiamínica de derivados fenólicos, muchos de ellos presentes en P. aquilinum. Entre otros compuestos investigados, se reporta una desactivación del 92 % para el catecol; de 60 a 64 % para la hidroquinona y del 26 al 28 % para el ácido gálico (Somogyi, 1971.).

Los problemas por avitaminosis B<sub>1</sub> siguen presentandose en todo el mundo (Andrade y Sunohara, 1970.; Joshi y Prasad, 1975.; Evans, et al. 1975 a y b.; Evans, W. 1976.).

La tiamina, como ester difosfórico, es el grupo prostético de la carboxilasa, que cataliza la decarboxilación de los alfa - cetoácidos como el ácido pirúvico en una reacción del tipo:



La inactivación del grupo prostético, podría bloquear la reacción catalizada por la carboxilasa, posiblemente produciendo un exceso de compuestos del tipo R- CO - COOH y un bajo nivel de los del tipo R-CHO. Se ha reportado bajos niveles de tiamina en tejidos y elevados niveles de ácido pirúvico en sangre, incorporando p. aquilinum a la dieta de ratas (Widdop, 1967).

Algunos aspectos de la deficiencia de tiamina en tejidos vegetales han sido revisados por Steward (1969).

La deficiencia de tiamina puede provocar el cese total del crecimiento. Este es proporcional a la concentración de tiamina en el rango de 0.1 a 1.0 µg. de tiamina por litro.

La presencia de sustancias carcinogénicas en P. aquilinum es ampliamente reconocida (Searle, 1976.) y ha sido objeto de una gran cantidad de investigaciones, por ejemplo las de Evans, et al. (1965). Evans, I. (1976), Hirono et al. (1970), Ushimaru (1978) y Pliss, (1979).

Estas sustancias se consideran carcinógenos de ocurrencia natural (Hirono, et al. 1975 y 1979.; Evans, et al. 1972, b.; Wang y Pamukcu, 1976.), que pueden formar parte de la dieta humana (Miller y Miller, 1976 y 1979.).

Todas las partes de P. aquilinum son carcinogénicas, con una mayor actividad detectada para los rizomas (Hirono, et al. 1973).

Los extractos acuosos provocaron una alta actividad carcinogénica en ratas (Hirono, et al. 1978) y se ha intentado por muchos investigadores aislar y caracterizar a los factores responsables (Wang, et al. 1973 b; Leach, et al. 1971.; Pamukcu, et al. 1970).

La exposición humana a las fitotoxinas de P. aquilinum plantea ciertos riesgos (Evans, et al. 1971), ya que la leche de vacas alimentadas con P. aquilinum muestra actividad carcinogénica y mutágena (Pamukcu, et al. 1978.). Price y Pamukcu (1968), sugieren que la alta incidencia de cancer en el estómago en humanos, en Japón, podría ser el resultado de la ingestión de P. aquilinum, ya que por mucho tiempo ha existido un consumo significativo de éste.

El procesamiento del hebrecho para su consumo no disminuye la actividad carcinogénica (Hirono, et al. 1972), inclusive si se utilizan elevadas temperaturas (Mori, et al. 1977.).

Las sustancias que han sido aisladas e identificadas como posibles carcinógenos incluyen al ácido shikimico, que también mostró una alta actividad mutágena (Evans, I. et al. 1974 y 1976.; Hirono, et al. 1977.b.) y

un compuesto del tipo tanino (Wang y Chiu, 1976.; Pamukcu y Wang, 1980).

Otros componentes entre los que están la amigdalina, el ácido clorogénico, el glucosido tilirósido y la quercetina, no fueron carcinogénicos (Wang y Chiu, 1976.) Sin embargo, Umezawa et al. (1977) describen la transformación de células embrionarias de hamster por la quercetina.

La etiología de la hematuria bovina y los experimentos por envenenamiento radiomimético severo en el ganado, bajo condiciones de laboratorio, han hecho que se reconzca el peligro de la ingestión prolongada de P. aquilinum por su carácter carcinógeno y la vulnerabilidad de un gran número de especies animales. En éstos, los tipos de tumores y los órganos afectados son muchos (Evans, 1979.).

Los mutágenos de ocurrencia natural han sido descubiertos generalmente como resultado de una epidemia en ganado o como el resultado de estudios epidemiológicos de cáncer en el hígado del hombre (Clark, 1976). Los trabajos subsecuentes han mostrado que los agentes tóxicos responsables frecuentemente poseen propiedades mutágenas. Ejemplos de éstos incluyen a los alcaloides de la pirrolizidina, cicasina, varias micotoxinas y por lo menos dos agentes tóxicos no identificados de P. aquilinum (Clark, 1976.). Existen 23 compuestos en P. aquilinum var. latiusculum que pueden ser carcinogénicos (Fukuoka, et al. 1978.). En pruebas de mutagenicidad,

utilizando Salmonella typhimurium T A 100 y T A 98, Fukuoka et al. (1978), encuentra actividad en varias fracciones extraídas por agua. La presencia de mutágenos diferentes a flavonoides fue demostrada. El compuesto kaempferol mostró una actividad notable.

La presencia de mutágenos en P. aquilinum ha sido demostrada también por pruebas de reversión con bacteriofagos T-4 (Roberts, et al. 1971.). La actividad antihematopoyética y carcinogénica de P. aquilinum (Schacham, et al. 1970.), hacen que las toxinas sean consideradas como radiomiméticas (Evans, 1968.).

La alta ocurrencia de carcinomas escuamosos en el tracto digestivo superior del ganado bovino en Inglaterra, ha sido correlacionada con la contaminación del forraje con Pteridium aquilinum (Pirie, 1973.); también ha sido correlacionado con la etiología de tumores en otros animales domésticos (Karbe, 1971.).

La carcinogenicidad en ratas, producida por otras plantas ha sido también investigada (Kapadia, 1978.), encontrando en experimentos a largo plazo un 100 % de ratas con tumores para Areca catechu y un 50 % para Diospyros virginiana, Sassafras albidum y Chenopodium ambrosioides y el 33 % de ratas con tumores para el caso de Rhus copallina. Sin embargo, parece que la actividad de las toxinas de P. aquilinum es una de las más altas, por lo que ha sido objeto de una gran cantidad de trabajos. Una revisión de los aspectos de carcinogenicidad fue publicada por Cooper, (1980). La

potente actividad carcinogénica de P. aquilinum ha sido demostrada para muchas especies animales (Pamukcu, et al. 1972.; Evans, et al. 1971 1972.; Matsushima, et al. 1975.; El Mofty, et al. 1980.).

Los efectos producidos por la ingestión de P. aquilinum incluyen cáncer en la vejiga urinaria (Dobereiner, et al. 1966.; Pamukcu et al. 1967.; Price y Pamukcu, 1968.; Pamukcu, et al. 1969 y 1976.; Pamukcu y Price, 1976.; Bryan, 1977.; Pamukcu, 1974.), así como en varias partes del tracto digestivo (Price y Pamukcu, 1968.; Burdette, 1974.; Campos, 1975.; Hirono, et al. 1977.a.; Mori, et al. 1979.).

Las lesiones detectadas incluyen muchos otros neoplasmas, además de los efectos antihematopoyéticos (Evans, 1968.; Pamukcu et al. 1972.; Maeda, 1975.; Mason, et al. 1973.).

Los efectos de la toxicidad han sido combatidos por la administración de tiamina (Pamukcu, et al. 1970.), pero con este tratamiento Pamukcu y col. observan una incidencia mayor de carcinomas en la vejiga urinaria.

Otro de los tratamientos aplicados, es la administración crónica de fenotiazida, con la que se observa una mejoría en el 50 % de los animales tratados (Pamukcu, et al. 1971.).

Se ha inhibido el efecto carcinogénico de P. aquilinum con otras drogas antineoplásicas (Pamukcu, et al. 1977.).

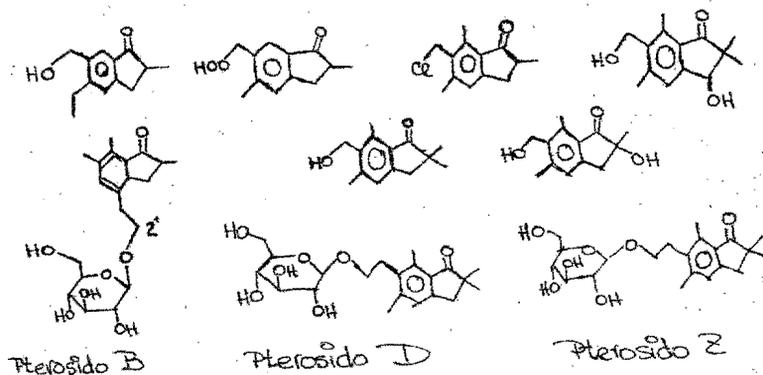
COMPUESTOS IDENTIFICADOS A PARTIR DE  
PTERIDIUM AQUILINUM

La presencia de inhibidores de la germinación y del crecimiento de plantas, así como de toxinas para los animales ha motivado una gran cantidad de investigaciones para la caracterización de los compuestos responsables de este comportamiento.

Los compuestos caracterizados son los siguientes:

Más de 20 clases de sesquiterpenos con un núcleo del tipo 1 - indanona, llamados Pterosines y a su forma de glucosido Pterosidos, además varios compuestos tipo esteroides y fenólicos (Yoshira, et al. 1978.; Kuroyanagi, et al. 1979.)

Las fracciones extraídas en hexano y benceno, separadas por cromatografía en capa fina, del tipo 1 - indanona (Yoshira, et al. 1971.; Hiquino, 1970 y 1971.) son:



Las pruebas de toxicidad efectuadas por Yoshira, se hicieron sobre animales experimentales y cultivos celulares Hella, usando extractos de frondas jóvenes de P. aquilium, var. latiusculum. Las fracciones conteniendo a los pterisines o pterosidos tipo B, no indujeron tumores en ratas. Sin embargo, las frondas y los rizomas sí fueron carcinógenos. Astragalina, Isoquercitrina, Rutina y otros dos pigmentos tipo flavonoide desconocidos (Nakabayashi, 1955.); a partir del extracto alcohólico, separaciones a partir de cromatografía en papel. Dado que estos pigmentos tiene una actividad para degradar tiamina, Nakabayashi asume que una porción del factor antitiamínico termoestable del helecho se debe a los flavonoides separados.

Acido Shikimico (Stravic, et al. 1976.; Duke, 1977.). Este compuesto ejerce un potente efecto carcinogénico en ratones y es mutagénico. O'Donovan, et al. (1977) reportan efectos embriotóxicos en ratones para este compuesto.

Quercetina (Pamukcu, et al. 1980.). Carcinogénico en ratas.

Acido Ftálico, Astragalina e iso - quercitrina (Wang, et al. 1973.).

Carcinogénico en ratones y mutagénico en E. coli.

Acido Hidrocianico, Mandelonitrillo (Duke, 1977). La dosis letal más baja publicada para humanos oralmente es de 570 microgramos para el ácido shikimico. Este compuesto está presente en una gran cantidad de plantas (Duke, 1977.).

LOS SIGUIENTES COMPUESTOS NO HAN SIDO, HASTA AHORA, IDENTIFICADOS EN P. AQUILINUM.

Compuestos Terpenoides.- Los terpenos inferiores (hemisesqui - y diterpenos) son los componentes principales de los aceites esenciales de muchas plantas e importantes entre los aromáticos vegetales a los cuales responden los animales. Los glucósidos cardiacos son efectivos venenos presentes en algunas plantas.

Las sapogeninas son esteroides de plantas como la yuca, el ágave y otras. Las sapogeninas son tóxicas para los animales, producen hemólisis y otros efectos sobre la permeabilidad de membranas (Whittaker, 1970.).

Grupo de alcaloides y nitrilos.- Los miembros de este grupo con anillos bencénicos pueden ser sintetizados por la vía metabólica

Triptófano  $\longrightarrow$  ácido indol - acético.

Los dos compuestos más comunes y conocidos por sus efectos alelopáticos son la amigdalina (que se degrada a benzaldehído, ácido hidrocianico, gentiobiosa y glucosa) y el compuesto Dhurin que se degrada a para - hidroxibenzaldehído, ácido hidrocianico y glucosa (Whittaker, 1970.).

El ácido hidrocianico sí ha sido encontrado en P. aquilinum (Duke, 1977.).

Otros Grupos.- Varios aminoácidos raros han sido encontrados en plantas. Entre éstos la azetidina - 2 - carboxílico, un análogo de la prolina, fue encontrado en la familia Liliacea, y produce inhibición del crecimiento de plantas y anomalías en el desarrollo animal, probablemente por su

contribución a la formación de proteínas alteradas (Whittaker, 1970.)

### COMPUESTOS FENOLICOS

Aspectos generales.- Solamente los carbohidratos son más abundantes que los compuestos fenólicos en las plantas superiores (Pridham, 1965.).

Tienen una gran variedad de estructuras que van desde los derivados de los fenoles sencillos hasta polímeros complejos, como la lignina.

Estos compuestos incluyen a los mono -, di - y trihidroxibencenos, alcoholes fenólicos, aldehídos y ácidos carboxílicos, ácidos hidroxicinámicos, aminofenólicos y aminados.

Existen pocas dudas de que los compuestos fenólicos sean fitotoxinas. Algunos pueden interferir con la fosforilación oxidativa (Bonner, 1949.).

Muchos compuestos fenólicos han sido implicados en alelopatía. Estos comprenden al ácido caféico (del Moral y Muller, 1969), al ácido para - cumárico (Muller et al. 1968.; del Moral y Muller, 1969.; Hanawalt, 1971.), al ácido ferúlico (del Moral y Muller, 1969.; McPherson et al. 1971.), a la hidroquinona (McPherson et al. 1971.; Hanawalt, 1971.), ácido para - hidroxibenzoico (McPherson, et al. 1971.; McCalla, 1971.), 7 - hidroxicumarina (Umbeliferona) (McPherson et al. 1971.), ácido vainillílico (McPherson et al. 1971.; McCalla, 1971.) y posiblemente a la cumarina (no es un fenólico) (Van Sumere, et al. 1971.).

El efecto inhibitorio de los fenoles sobre la germinación ha sido bien documentado por Abdul - Wahab y Rice, (1967), y por McPherson et al. (1971).

Al igual que con la germinación, los efectos inhibitorios de los compuestos fenólicos sobre el crecimiento del hipocótilo han sido demostrados (Dawes y Maravolo, 1973). Vázquez et al. (1968), mostraron que la umbelliferona inhibía el crecimiento de varias especies. Wang et al. (1967), observaron que los ácidos vainílico y ferúlico inhibían el crecimiento del tallo y la raíz de varios cereales. McPherson et al. (1971), demostraron que varios fenólicos, incluyendo a la umbelliferona y a los ácidos vainílico y ferúlico, inhibían por completo el crecimiento del hipocótilo de Lactuca sativa.

La base fisiológica de esta respuesta es probablemente el balance hormonal (Dawes y Maravolo, 1973). La hormona más importante para el crecimiento de la raíz es una auxina (Thimann, 1969.). La interferencia de los compuestos fenólicos sobre el balance de auxinas es bien conocida, dada la acción oxidativa de éstos sobre las auxinas, que puede ser evitada o acelerada (Waygood y MacLachlan, 1961.).

De esta forma, algunos fenólicos aumentan los niveles de auxinas, mientras que otros los abaten (Tomaszewski y Thimann, 1966.).

Los compuestos fenólicos pueden originarse a partir del metabolismo normal y posiblemente por su absorción del suelo (Fridham, 1965.) Algunos integrantes del grupo fenólico, con uno o más anillos bencénicos son derivados de los aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina y tryptófano, a partir de la ruta metabólica del ácido shikímico y prefénico. Otros son producidos por condensación de unidades de acetato (Goodwin, 1976,; Whittaker, 1970.).

El ácido cinámico puede sintetizarse directamente a partir del aminoácido fenilalanina por la acción de la enzima Fenil - alanina - amoníalasa. Similarmente, por la enzima L-tirosina amoníalasa, el ácido para-cumárico puede ser sintetizado a partir de la tirosina (Goodwin, 1976.; Pridham, 1965.). Esta última enzima parece ser predominante en pastos, sin embargo otras plantas presentan actividades notables de ésta (Jangaard, 1975.; Pridham, 1965.).

Han sido extraídos compuestos fenólicos fitotóxicos de semillas, frutos y de suelos que contenían material en descomposición de plantas, entre éstos están los ácidos para-hidroxibenzoico, vainilico, paracumárico y ferúlico. Un rango similar de ácidos fenólicos han sido extraídos de residuos de cereales y de Peridium aquilinum (Walker, 1975.; Yoshira, 1978.; Whitehead, 1964.).

Dentro de los fenólicos de un solo anillo bencénico, están la hidroquinona, el pirogalol, el catecol y el floroglucinol; la arbutina es un glucósido de la hidroquinona. El ácido gálico y el gentísico son fenoles de 7 carbonos. La vainillina, el para-hidroxibenzaldehído y el siringaldehído son fenoles de 8 carbonos. Estos tres son derivados de la degradación de la lignina (por oxidación). Lo mismo que los fenoles de 9 carbonos, como los ácidos cinámicos (trans-cinámico, para-cumárico, caféico, ferúlico y sinápico), y las cumarinas (cumarina, scopoletina y lactonas de los ácidos trans-cinámico y ferúlico), la mayoría de los compuestos fenólicos mencionados han sido implicados en fenómenos alelopáticos

(Whittaker, 1970.; Goodwin, 1976.).

Se reporta (Pridham, 1965.) que el ácido 3,4,5 - trihidroxi cinámico es precursor del ácido gálico. El ácido cumárico lo es de la hidroquinona (Whittaker, 1970.).

Algunos compuestos fenólicos se encuentran en los aceites esenciales y son responsables del aroma. Se pueden encontrar quinonas con efecto repelente. Existe evidencia de que los compuestos fenólicos contribuyen a la resistencia de las plantas contra infecciones por hongos (Whittaker, 1979.).

Las ligninas son polímeros de alto peso molecular, formados por los alcoholes fenólicos de un anillo bencénico, coniferílico, sinápico y para -hidroxicinámico. Dentro de este grupo se encuentran los flavonoides y compuestos afines. Son de gran toxicidad para los hongos, insectos, peces y ratones (Whittaker, 1970.).

Los taninos son compuestos fenólicos poliméricos. La hidrólisis de algunos taninos produce ácido gálico; otros producen ácido elágico u otros ácidos fenólicos (Whittaker, 1970.).

En 1957, Ravin y Kein (Pridham, 1965) mostraron que los ácidos caféico y clorogénico son inhibidores de la oxidasa del ácido indol - 3 - acético.

Es importante hacer notar que otros compuestos fenólicos con grupos orto-dihidroxiilos u orto-hidroxi-metoxi son comunmente inhibidores de de la oxidasa del indol - 3 - acético, mientras que los compuestos que poseen grupos para - hidroxi-fenil son activadores (Pridham, 1965). En este caso, por ejemplo, el ácido para-cumárico se comportaría como un

activador y los ácidos ferúlico y sinápico como inhibidores competitivos (Pridham, 1965.).

Debe ser aparente el que la mayoría de estos compuestos pueden ser sintetizados por varias rutas metabólicas. La importancia relativa de estas rutas metabólicas pueden depender de la especie, la edad del tejido y las condiciones ambientales bajo las cuales se desarrolla la planta (Pridham, 1965.).

Las investigaciones sobre la toxicidad de los fenólicos como el ácido clorogénico, para-cumárico, para-hidroxibenzaldehído, ácido iso-clorogénico y ácido tánico, han hecho concluir que existe una toxicidad selectiva y que tal selectividad podría explicar la presencia exclusiva de ciertas plantas en las comunidades (Rice, 1974.).

Los compuestos fenólicos son los agentes alelopáticos prevalentes en las regiones de alta humedad, así como los compuestos terpénicos lo son en zonas semiáridas (Dawes y Maravolo, 1973.).

El patrón de compuestos fenólicos observados en Pteridium aquilinum corresponde a lo que ha sido denominado como el "complemento básico" (Bohm y Tryon, 1967). Estos compuestos se encuentran frecuentemente y están relacionados con la ruta metabólica de la lignina. Estos consisten de los ácidos para-cumárico, caféico y ferúlico, incluyendo a sus ácidos benzoicos correspondientes, para-hidroxibenzoico, protocatecuico y vainilico.

La presencia del "complemento básico" sugiere que la bien establecida ruta metabólica de los fenoles en Angio y Gimnospermas funciona de una forma similar en los helechbs.

Como los ácidos cinámicos están involucrados en la síntesis de los flavonoides (Goodwin, 1976.), une a esta ruta con aquella de la síntesis de la lignina.

Las ligaduras bencil-eter de la lignina se piensa que son formadas por la adición enzimática de compuestos hidroxilados a quinonas metiladas (Hemmingson, et al. 1975).

Estas enzimas tiene aparentemente una especificidad para los compuestos hidroxifenólicos. Los ácidos para-cumárico ( $K_m = 1.4 \times 10^{-5}$ ) y ferúlico ( $K_m = 3.1 \times 10^{-5}$ ) son los más activos, seguidos por el ácido caféico (Rhodes y Wooltorton 1973).

Por otra parte, el ácido cinámico y sus derivados metoxilados no son incorporados y tiene al mismo tiempo un efecto inhibitorio sobre la actividad de fenil alanina-amoni-lisa (Boudet, et al. 1971.; Goodwin, 1976.).

Un inhibidor de la actividad de la enzima fenil-alanina-amoni-lisa, sería el ácido cinámico o un derivado metoxilado. Pueden ser susceptibles las especies con un cociente de actividad elevado Fenil alanina-amoni-lisa/Tirosina-amoni-lisa; estas especies son (Jangaard, 1974.):

Ipomea purpurea, Pteridium aquilinum, Amarantus retroflexus, Setaria viridis, S. gluca. Todas ellas malezas.

## INHIBIDORES DE LA GERMINACION Y REGULADORES DEL CRECIMIENTO EN RELACION A PTERIDIUM AQUILINUM

Las clases de sustancias accesorias reguladoras del crecimiento comunemente reconocidas son las auxinas, las giberelinas y las sustancias inhibidoras, que pueden trabajar como antagonistas de las anteriores (tales como las antiauxinas como la cumarina, el ácido trans-cinámico o el ácido para-clorofenoxi isobutírico y las abscisinas o bien los factores inductores de latencia como el ácido abscísico) y, por último, una multiplicidad de sustancias o combinaciones de ellas, que colectivamente inducen división celular, las cinetinas (Steward, 1969.).

Las pruebas realizadas con el ácido clorogénico resultaron en la demostración de una alta actividad sobre la germinación, motivando un gran número de experimentos con sustancias con configuraciones de anillo y carácter fenólico (Steward, 1969). Las pruebas con un gran número de sustancias fenólicas y flavonoides, la mayoría de las cuales ocurre naturalmente, probaron que estos compuestos pueden ser muy activos. La presencia en estas moléculas de grupos catecol, sugiere que pueden actuar como aceptores y donadores de protones (Steward, 1969). En general la presencia de moléculas de tipo quinona en el grupo estudiado, sugiere que este tipo de configuración puede participar en reacciones de oxido-reducción, actuando no sólo como aceptor-donador de protones, pero también de electrones.

Debido al potencial de oxido-reducción, particular para cada molécula (Pullman y Pullman, 1963.), podría sugerirse que la interacción es com-

pletamente específica, tanto en lo que se refiere al nivel de acción, como a la sustancia cuya actividad está siendo investigada.

Por ejemplo, ha sido descrita la inhibición del transporte electrónico fotosintético por benzoquinonas monosustituidas (Oettmeier, et al. 1978.) o la actividad inhibidora o estimulante sobre la oxidasa del indol - 3 - acético, en función del patrón de sustitución orto- o para- de compuestos fenólicos (Pridham, 1965.) o bien, la distribución selectiva en plantas de inhibidores endógenos de la cadena respiratoria, detectándose una de las más altas actividades en frondas de Pteridium aquilinum, Forsythia intermedia, Corylus avellana y Quercus spp. (Schewe, et al. 1975).

Sin embargo, a pesar de que en muchos casos la estructura esencial para producir una actividad biológica en particular es deducida "a posteriori" (a partir de la observación de la relación entre modificaciones estructurales y cambios de la actividad biológica), cuando el sitio receptor es muy específico, tal forma de razonamiento no puede ser fácilmente aplicado (Hirata, 1978.).

Lo anterior es especialmente válido cuando no se estudian fenómenos en sistemas aislados, como es la germinación o el crecimiento de una planta. Los compuestos de ocurrencia natural responsables de la regulación del crecimiento de las plantas están siendo estudiados intensivamente en la actualidad (Wain, 1975 y 1979).

Los inhibidores de la germinación son relativamente inespecíficos dado el número de especies a las que afectan; pueden ser de ocurrencia natural

o sintéticos, y son activos solamente durante la germinación de la semilla o a nivel de plántula, pero son raramente activos en plantas maduras (Cathey, 1964.).

Las plantas más sensibles a los retardadores del crecimiento son aquellas con tallos largos y de crecimiento lento y sostenido; los retardadores del crecimiento ensayados fueron poco efectivos con plantas que crecen en matorrales y responden solamente con dosis muy altas.

Las plantas que forman estructuras de latencia como bulbos o rizomas, no responden al tratamiento aún con dosis masivas. Los compuestos descritos hasta ahora, han sido activos con plantas dicotiledoneas; solamente han sido efectivos en unas pocas especies de monocotiledoneas, y han sido inactivos en todas las dosis en plantas de la división Gymnospermae y en las plantas de la división Pteridofita (Cathey, 1964).

Se asume que existe un mecanismo dentro de la semilla, probablemente hormonal, que asegura la secuencia de los primeros signos de la germinación, en general la protusión de la radícula seguida de la emergencia del hipocótilo o plúmula es considerada normal. Esta secuencia puede ser alterada en algunas semillas con cinetina. Cuando se colocan semillas de lechuga sobre papeles filtro humedecidos por una solución de cinetina, muchas de ellas germinan por hinchamiento de los cotiledones seguida por la extensión del hipocótilo (Black, 1972.).

El embrión controla la producción de enzimas de la aleurona; la señal del embrión para que la aleurona produzca enzimas activas es el ácido

giberélico. Uno de los primeros eventos de la germinación de la cebada es la producción del ácido giberélico por el embrión (Black, 1972.). Por lo tanto, son dos hormonas las responsables de la movilización de reservas del endospermo: el ácido giberélico para la producción de enzimas y el ácido indol - 3 - acético para favorecer el transporte del ácido giberélico.

En el presente trabajo se utilizaron semillas de lechuga, Lactuca sativa var. Dark Green Cos, para los ensayos de inhibición de la germinación y crecimiento en el laboratorio. Por esto, se considera necesario revisar algunos aspectos fisiológicos de estas.

Las semillas de lechuga son frutos secos (aquenios). Lactuca sativa tiene un endospermo delgado y las reservas se encuentran en los cotiledones.

Haber y Luippold en 1960 (Van Sumere et al. 1971). concluyeron, a partir de experimentos en semillas de lechuga, que la división celular y la elongación celular ocurren una vez que las células de las semillas han sido activadas de alguna forma, tal que permita el control de estos procesos por varios factores, que son generalmente mutuamente dependientes.

Un paso esencial en la germinación de las semillas es la síntesis "du novo" de proteínas, pero solamente durante los primeros 40 minutos esta es mediada por el mRNA transcrito durante la embriogénesis (Cheung, 1979).

Algunas variedades de lechuga, tales como Great lakes o Dark green cos, han sido consideradas insensibles a la luz, dado que germinan

igual en la oscuridad en el rango de 20 a 25° C (Negm y Smith, 1978.). Weintraub, (1948), reporta la inhibición de semillas germinadas en la oscuridad por compuestos orgánicos a concentraciones de 0.10 y 0.15 M. Posteriormente, Kahn (1960) muestra que también las sales inorgánicas producen tal inhibición en la oscuridad y que una breve irradiación con luz roja es efectiva para prevenir tal inhibición.

En otros trabajos (Negm, 1972 y 1973) se reporta la inhibición de la germinación de semillas de lechuga por soluciones de 0.35 a 0.40 M. de manitol a 25° C en la luz y el efecto desinhibitorio del etileno.

Negm (1978) reporta el efecto de la estimulación que sobre la germinación de semillas de lechuga tiene el etileno y describe una concentración óptima de CO<sub>2</sub> para la germinación de éstas, siempre sinérgicamente con etileno. El dióxido de carbono por sí mismo es ineficiente. Como criterio de germinación utiliza la protusión de la radícula, y utiliza los porcentajes de germinación a los 5 días después de colocar a las semillas en cajas de petri selladas.

Las semillas fueron colocadas sobre papel filtro humedecido con la solución a investigar. El porcentaje de germinación más alto que fue obtenido por Negm (1978) fue en este plazo de 5 días después de iniciada la imbibición, dada la acumulación de etileno que fue de 0.3 µl / l y la de CO<sub>2</sub> que fue de 5.0 %.

PTERIDIUM AQUILINUM COMO MALEZA PERSISTENTE Y SU  
CONTROL QUIMICO Y BIOLOGICO

Dado que este helecho es una maleza persistente que invade a varios cultivos y además es tóxico para el ganado, constituye un problema económico importante. El control de P. aquilinum ha sido objeto de numerosas revisiones (Great Brit. Min. Agric. Fish Food, 1972.; Carpenter, 1972.; Nalewaja, 1972.; Boullard, 1973.; Hoskin, 1973.; Ersova, 1974.; Smith, 1975.; Watt y Tustin, 1975.; Flether y Kirkwood, 1979.). Pteridium aquilinum es una maleza resistente a los herbicidas convencionales; para su combate en plantíos de té en la India, Rao y colaboradores (1977), utilizaron el herbicida Asulam (3.2 kg./Ha.). En Nueva Zelanda, p. aquilinum es la maleza más extendida que afecta a la silvicultura (Preest, 1975.). En el cultivo de la yuca, Manihot esculenta, en Colombia, es una de las malezas más frecuentes (Dool, et al. 1977.; Diaz, et al. 1977).

Para lograr la eliminación de Pteridium por corte, se requiere de tres a cinco años; durante el primero y segundo años, se requieren dos o mas cortes cada cinco o seis semanas (Robins, et al. 1969.), lo anterior pone de manifiesto la persistencia de esta maleza.

La época de corte o de quema puede ser importante para la erradicación (Muhle, et al. 1972.; Preest, 1978.; Beaumont, et al. 1975.)

La recolonización de un área por p. aquilinum aparentemente requiere de 5 a 6 años, manteniéndose casi libre de éste durante 4 años (North Scotland Coll. Agr., 1977.).

La cantidad de artículos publicados sobre el control de este helecho es muy grande. A continuación se mencionan algunos de ellos, indicando el lugar y tipo de cultivo o habitat afectado.

Georgia, URSS.	Plantios de Té	Purtskhvanidze, 1973.
Inglaterra	Pastizales	Dover, 1975.; Hagggar, 1974.;; West Scotland Agr. Coll., 1974.;; North Scotland Coll. Agr., 1975.;; Lowday, et al. 1977.
Noruega	Pastizal	Jakobsons, 1976.
Taiwan	Plantios de té	Liau, 1974.
Uppsala, Suecia	Bosques	Lund-Hoise, 1974. y 1975
Republica Federal Alemana	Bosques	Peñalozza y Volger, 1972.

El combate de p. aquilinum, además de los altos costos de los herbicidas, plantea problemas sobre las especies de interés, ya que les produce daño (Lund-Hoie, 1974.) o disminuye la calidad de los forrajes (Robocker, 1971.).

Como los intentos de controlar a P. aquilinum pueden repercutir sobre la composición de la vegetación, es necesario examinar el efecto que su eliminación pueda tener (Martin, 1976.).

Existen algunos artículos publicados sobre el control biológico de p. aquilinum. Estos, recurren a pastoreo intensivo (Stary, 1974.) o a estudiar la fitosociología de una comunidad con p. aquilinum (Levy, 1970.) y no parece haber una solución definitiva por estos medios, al igual que recurriendo al control químico. Puede ser que el obstáculo para que este helecho sea depredado por fitófagos sea la presencia de cianuros orgánicos (Cooper - Driver, 1976.).

De los insectos asociados a P. aquilinum, Lawton (1978) reporta a un Lepidoptero (Tortricidas) polífago alimentándose de éste: Olethreutes lacunana (Denis y Schiffermuller), así como la estructura de una comunidad de artrópodos (Lawton, 1976.). Hendrix, S. (1977), describe la presencia de un compuesto diferente al factor antitiamínico de p. aquilinum (Somogy, 1969 y 1971.) o a ecdisonas, que impiden que este helecho sea atacado por Trichoplusia ni (Lepidoptera: Noctuidae).

El estudio de la fauna de insectos asociados a p. aquilinum en Papua, Nueva Guinea como una fuente potencial de agentes para control biológico (Kirk, 1977.), parece plantear opciones muy interesantes. Kirk describe 16 especies de Coleoptera, una de Diptera, una de Hemiptera, cinco de Lepidoptera y una de Orthoptera, atacando a p. aquilinum. Los helechos de Nueva Guinea también contienen cianuros orgánicos y fitoecdisonas.

Hutchinson, (1976), describe el efecto de patógenos fúngicos, en experimentos de laboratorio, sobre el gametofito de P. aquilinum, correlacionándolos como los posibles agentes causales de la enfermedad de colonias del helecho en el campo.

OBSERVACIONES PRELIMINARES SOBRE PTERIDIUM AQUILINUM EN  
EL CULTIVO DEL CAFE

En teocelo, Veracruz, se encontró Pteridium aquilinum ampliamente distribuido, desde las hondonadas hasta las cimas de los montes de la localidad. No se puede hablar de una zonación natural ya que toda la región se encuentra perturbada.

Generalmente en las regiones altas se encuentran sitios de pastoreo con grandes extensiones de pastizales, en los cuales podemos encontrar a Pteridium aquilinum con, aparentemente, una mayor abundancia y constituyendo un problema como agente tóxico, según informes de la gente de la localidad.

En las regiones más bajas, donde uno de los principales productos es el café, se pueden encontrar ejemplares aislados de Pteridium aquilinum. Sin embargo, hacemos notar la gran perturbación de la zona.

Se pueden encontrar plantíos de café en primer lugar de abundancia, pastizales en segundo y una gran cantidad de campos de cultivo de naranjales, donde también se encuentran grandes invaciones por P. aquilinum.

Existe una forma muy peculiar de aprovechar ciertas propiedades de las frondas de p. aquilinum. Podríamos decir que se trata de un aprovechamiento empírico. Podemos encontrar almácigos y viveros para el cultivo de café en los cuales sobre la parte superior y suspendida por cables horizontales hay una capa de frondas, completamente secas, de Pteridium

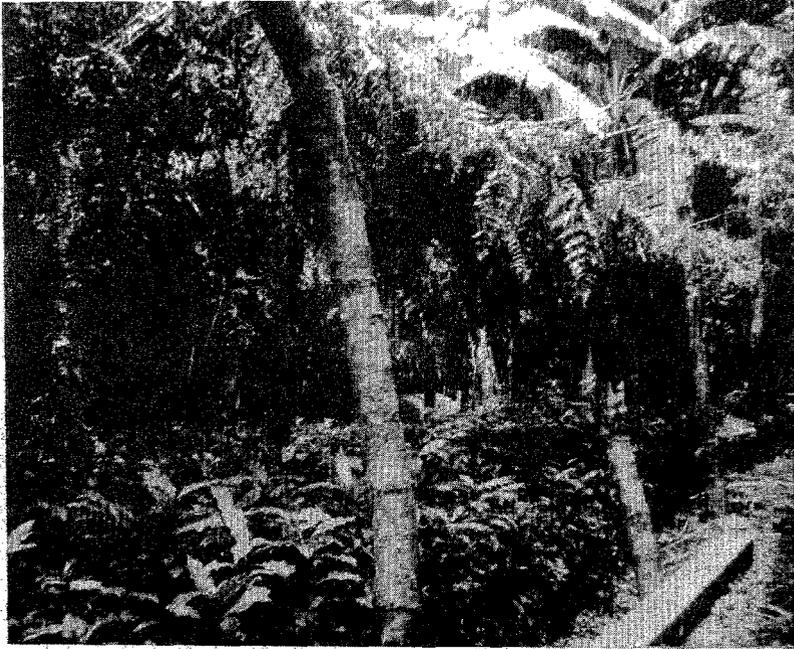
aquilinum, que al mismo tiempo que proporciona sombra, parece ayudar a mantener a los almácigos y viveros libres de maleza.

Una observación realizada en un vivero derruido, que aún conservaba frondas y algunas plantas de café y a pesar de haber sido abandonado por más de un año, se encontraba completamente libre de cualquier otra planta, con la excepción de un ejemplar de Tradescantia spp.

Como Pteridium aquilinum no es una maleza que se encuentre en abundancia en las zonas bajas, con las consideraciones previas de influencia humana donde se hicieron las observaciones en almácigos y viveros, es necesario transportarlo desde las regiones más altas, en la mayoría de los casos es comprado, para construir la cobertura de los almácigos y viveros.

Puede ser interesante hacer notar ciertas características de la zona de pastoreo más intensamente invadida por Pteridium aquilinum en Teocelo.

Cuando este helecho está vivo puede crecer en medio de pastizales sin un efecto aparente. En un pastizal donde había una densidad de población de pastos menor, en comparación con los que no estaban invadidos por Pteridium aquilinum, éste había sido abandonado por un periodo de 4 a 5 años. En circunstancias menos drásticas, estando el helecho vivo en grupos de 4 a 5 frondas, no fueron observados efectos significativos sobre la densidad de población de las gramíneas, en comparación con los pastizales donde no había P. aquilinum.



Vivero de café en Teocelo, Ver.  
Sobre la parte superior se aprecia  
una capa de frondas secas de  
P. aquilinum





Vivero derruido conservando  
algunas frondas de P. aquilinum  
y plantas de café de 2 a 3 años  
de edad .





Vivero derruido en el que podemos  
observar con algun detalle el suelo  
del mismo .

## OBJETIVO

El objetivo de este trabajo, en su parte experimental, es el estudiar el efecto que puede ejercer el uso de frondas de Peridium aquilinum (L.) Kuhn, var. pubescens y latiusculum con respecto al de hojas de Musa spp., en la cobertura de almácigos y viveros, sobre las plantas de café cultivadas en ellos. Para ello, se diseñó un experimento a nivel de almácigos y viveros que nos permitiera discernir el efecto ejercido. Se trata, así mismo, de caracterizar al grupo de compuesto (s) químico responsables del efecto sobre las plantas de café, incluyendo en el vivero experimental un tratamiento con la fracción separada de frondas de P. aquilinum, que en bioensayos de laboratorio mostró ser activa sobre el crecimiento de plántulas de avena var. Nodeway y ser inhibitoria de la germinación de semillas de lechuga var. Dark green cos y de Diente de León, Lipidium sativum. Los compuestos fenólicos, presentes en la fracción anterior, pueden modificar el crecimiento y la germinación a través de la modificación de los niveles de la oxidasa del ácido indol-acético (Leopold y Kriedemann, 1975.) o de tiamina (Somogyi, 1969 y 1971). Por lo anterior, se incluyeron dentro de los tratamientos efectuados en el vivero experimental a el ácido gálico y a la hidroquinona, esperando que estos compuestos ejerzan un efecto análogo sobre las alturas y los grosores de las plantas de café que el de una cobertura de P. aquilinum. En comparaciones de las mediciones de alturas y grosores de plantas de café cultivadas en viveros de una misma localidad (Coatepec o Teocelo,

Edo. Veracruz) que diferían en el tipo de cobertura, i. e. Musa spp. o P. aquilinum (L.) Kuhn, var. pubescens y latiusculum, se encontraron sistemáticamente diferencias significativas para ambos parámetros. Los viveros muestreados habían sido cultivados por los cafecultores de las localidades mencionadas. La marcada preferencia de éstos por una cobertura de P. aquilinum, en muchos casos es comprado, y la aparentemente mejor calidad de las plantas de café, i.e. mayor altura y grosor, hace considerar la posibilidad de que exista un efecto significativo sobre las características de las plantas de café cultivadas en almácigos y viveros que utilizaron una cobertura de frondas de P. aquilinum.

Para eliminar otro tipo de efectos como la manipulación del cultivo, tipo de suelo, riego, etc. y poder establecer la existencia de una influencia por tipos de cobertura sobre las plantas de café, se cubrieron con hojas de Musa spp. o con frondas de P. aquilinum porciones escogidas aleatoriamente en un almácigo, desde antes de la germinación de las semillas de café. Por otro lado, en el vivero experimental se recurrió a un diseño de bloques completos al azar. En este diseño se espera discernir el efecto de la cobertura, y el de la fracción obtenida de frondas de P. aquilinum, el de los tratamientos con hidroquinona o ácido gálico, así como las posibles interacciones que los tratamientos puedan presentar por la presencia de malezas en las unidades experimentales. Para lo anterior, se incluyeron en el vivero experimental una réplica de los tratamientos anteriores, sin deshierbe.

## MATERIALES Y METODOS

### PRUEBAS DE LABORATORIO

#### Preparación de las fracciones a ensayar

Los ejemplares de Pteridium aquilinum para realizar el trabajo experimental fueron recolectados en la Estación Biológica de los Tuxtlas y en Teocelo, ambos en el Estado de Veracruz.

La preparación del material colectado consistió en escoger frondas maduras de las variedades pubescens y latiusculum, secarlas en el laboratorio a temperatura ambiente, separarlas del raquis y proceder a moler el material. Este se conserva en recipientes cerrados en un lugar fresco y seco.

Con el molido de las frondas de P. aquilinum (70 g, peso seco), se hizo una separación de fracciones de 50 ml cada una, según el orden de destilación por arrastre con vapor. Las fracciones obtenidas (20 fracciones), marcadas de la 'a' a la 't' y el residuo de la destilación, se utilizan para efectuar una prueba de germinación con semillas de lechuga y también para determinar su espectro de absorbancia. Esto, tiene por objeto el tratar de correlacionar alguna banda de absorbancia con la actividad de inhibición de la germinación. Las gráficas de germinación en función de la fracción destilada y los espectros de absorbancia pueden ser vistos en la sección de resultados.

Con el molido de frondas de P. aquilinum, se repite el procedimiento anterior, pero esta vez las frondas son hidrolizadas (HCl 2.9 N), sometiéndolas a ebullición con reflujo durante tres horas. Se obtienen 14 fracciones por arrastre con vapor, marcadas de la 'A' a la 'N'.

Se colocan pruebas de germinación como en el caso anterior y se determinan los espectros de absorbancia. Las gráficas de germinación y los espectros de absorbancia pueden ser vistos en la sección de resultados. Como las fracciones A y B podrían contener grupos fenólicos monosustituidos (ver espectros de absorbancia en la sección de resultados), se hace una reacción de confirmación con reactivo de Millon, precipita grupos fenólicos y albúminas, y se hace una lectura al espectrofotómetro del sobrenadante de la reacción.

También se realiza una reacción con ninhidrina para la fracción A.

Las fracciones obtenidas a partir de P. aquilinum, donde se obtuvieron las actividades más altas sobre la germinación y que fueron utilizados en las pruebas de germinación y crecimiento, fueron las siguientes:

Extracto Crudo.- Se obtiene a partir de remojar frondas de p. aquilinum en agua destilada y filtrar. La solución es limpiada de partículas. Se utilizaron soluciones al 1.0 % (p/v).

Fracción 1.- Son los primeros 50 ml del destilado obtenido por arrastre con vapor de un hidrolizado ácido (HCl 2.9 N, 3 horas a reflujo) de 30 gramos (peso seco) del molido de frondas de P. aquilinum.

Fracción A.- Es la fase acuosa que se obtiene después de extraer a la fracción 1 con  $\text{HC Cl}_3$  (1 : 1), grado analítico.

El potencial osmótico para los extractos fue determinado por el método del punto de rocío, usando una cámara picométrica (Wesearin). Se encontró que el potencial osmótico para las primeras fracciones obtenidas por arrastre con vapor, correspondía a una concentración de sales del orden de 0.015 M.

## PRUEBAS DE GERMINACION

Con el objeto de determinar el papel de este helecho como agente inhibidor de la germinación de semillas, se trató de localizar alguna fracción, separada de P. aquilinum, que poseyera esta característica, observando sus efectos sobre la germinación y el crecimiento de semillas de lechuga, principalmente. Estas semillas fueron escogidas por sus características de germinación, aptas para ser trabajadas bajo las condiciones del laboratorio (ver la sección de fisiología de la germinación)

Como primera etapa se efectuó una prueba de germinación con diferentes medios, para tratar de discriminar los efectos de inhibición por factores de presión osmótica, con la variedad de semillas utilizadas. Los ensayos fueron los siguientes:

- |  |  |
|--|--|
| I) $\text{KNO}_3$ 1 % (p/v).   | 200 semillas (dos cajas de petri cada una con 100 semillas y 20 ml de la solución) |
| $\text{KNO}_3$ 0.1 % (p/v).  | 200 semillas (Idem)  |
| $\text{H}_2\text{O}$ X (agua destilada)  | 200 semillas (Idem)  |
| II) Se repitieron los medios anteriores usando ahora $\text{NaNO}_3$<br>(las cajas de petri fueron selladas con pa rafilm) |  |

## CLASES DE SEMILLAS Y CONDICIONES DE GERMINACION

En las pruebas de germinación y crecimiento en el laboratorio se utilizaron semillas de lechuga (Lactuca sativa, var. Dark green cos), semillas de avena variedad Nodeway y semillas de diente de león, Lipidium sativum.

Las mediciones de las pruebas con semillas de lechuga se efectuaron a los 5 días después de iniciada la imbibición en cajas de petri selladas; las semillas se colocaron sobre papel filtro Whatman No. 1 analítico para cromatografía, humedecido en la solución a investigar. Lo anterior se adopta debido a que el porcentaje de germinación más alto obtenido fue en este plazo (Negin y Smith, 1978.), dado que existe una acumulación de etileno ( $0.3 \mu\text{l} / \text{litro}$ ) y de  $\text{CO}_2$  (5 %), producidos por las semillas en germinación en recipientes cerrados.

Se hace una revisión de su fisiología, durante la germinación, en la sección "Inhibidores de la germinación y reguladores del crecimiento en relación a Pteridium aquilinum " del presente trabajo.

Para cada bioensayo se colocó, en todos los casos, un testigo en agua destilada, en las mismas condiciones que los lotes en los cuales se realizaba una prueba. Las comparaciones se basaron sobre estos testigos en turno. Las pruebas fueron realizadas en las condiciones ambientales del laboratorio. La temperatura promedio fue de  $23 + 2.5 \text{ }^\circ\text{C}$  a iluminación constante con lámparas fluorescente.

La germinación y las mediciones para las semillas de avena se realizaron a las 120 horas después de iniciada la inhibición. Las condiciones de germinación fueron las mismas que las utilizadas para las semillas de lechuga. En todos los casos se colocó un testigo para cada prueba y las comparaciones se basaron sobre los testigos en turno.

Las pruebas de germinación para Lipidium se efectuaron en la oscuridad a  $20 \pm 1$  °C. Las determinaciones se efectuaron a las 48 horas, a las cuales se alcanzó un estadio de desarrollo de 15 mm para la radícula.

En todos los casos las determinaciones son el promedio de por lo menos tres determinaciones.

## PRUEBAS DE CAMPO

## CARACTERISTICAS CLIMATICAS Y UBICACION DE LAS ZONAS DE TRABAJO

El sistema de clasificación climáticas usado para analizar y describir el clima fue el de Köppen, modificado y adaptado por García (1970).

Zonas de Colecta

Estación Biológica de los Tuxtlas. - Está ubicada a los 18° 34' de Latitud Norte y a 95° 04' de Longitud Oeste, a 160 m. s. n. m.. La temperatura anual promedio es de 23° C y una precipitación anual promedio de 4 505 mm. La temperatura media del mes más frío, diciembre, es de 20° C y la del mes más caliente, mayo, de 26° c. La oscilación de temperaturas es de 6° C, con un régimen de lluvias tipo f (m). El cociente precipitación en temperatura es de 188.8 y el porcentaje de lluvias de invierno es de 11.5 %. El tipo de clima queda definido como Af (m) (i') g.

Coatepec. - Está ubicado a los 19° 27' de Latitud Norte y a 96° 57' de Longitud Oeste, a 1 225 m. s. n. m., La temperatura anual promedio es de 19° C y la precipitación anual promedio de 1 957 mm. La temperatura anual media es de 15.7° C en el mes más frío, enero, y en el mes más caliente, mayo, de 22° C. La oscilación de temperatura es de 6°C, con un régimen de lluvias tipo (fm). El cociente precipitación en temperatura es igual a 103.5 y el porcentaje de lluvias de invierno es de 9.9 %. El tipo de clima queda definido como (A) C (fm) a (i') g.

Teocelo.- Está ubicado a los  $19^{\circ} 24'$  de Latitud Norte y a los  $96^{\circ} 58'$  de Longitud Oeste a 1 218 m. s. n. m.. La temperatura anual promedio es de  $19.6^{\circ} \text{C}$  y la precipitación anual promedio de 2 182 mm.

La temperatura media del mes más frío, enero, es de  $16.2^{\circ} \text{C}$  y la del mes más caliente, mayo, de  $22.4^{\circ} \text{C}$ . La oscilación de temperatura es de  $3.2^{\circ} \text{C}$ ; con un régimen de lluvias tipo (m). El cociente precipitación en temperatura es igual a 111.3 y el porcentaje de lluvias de invierno de 8.3 %. El tipo de clima queda definido como (A) C (m) a (f') g.

#### Zona de Ubicación del Almacigo y el Vivero Experimental

La zona de trabajo está ubicada en el Distrito de Riego de Jalapa, Ver. En la localidad de Tuzampan quedaron instalados los almacigos y en la Congregación del Castillo, el vivero experimental. Ambas zonas están próximas por lo que se considera la misma clasificación climática y ubicación para ambas.

Su localización es de  $19^{\circ} 32'$  de Latitud Norte y de  $96^{\circ} 55'$  de longitud Oeste, a 1 361 m. s. n. m.. La temperatura anual promedio es de  $17.9^{\circ} \text{C}$  y la precipitación anual promedio de 1 515 mm. La temperatura media del mes más frío, enero, es de  $15^{\circ} \text{C}$  y la del mes más caliente, mayo, de  $20.2^{\circ} \text{C}$ . La oscilación de temperatura es de  $5.2^{\circ} \text{C}$ , con un régimen de lluvias uniformemente repartida, (fm). El cociente precipitación en temperatura es igual a 84.6 y el porcentaje de lluvias de invierno es de 18 %. El tipo de clima queda definido como C (fm) b (f') g.

## PRUEBAS DE CAMPO EN ALMACIGOS

La utilización de Pteridium aquilinum en almacigos

La siembra de café en los almacigos se inicia en la segunda mitad de marzo. La cubierta utilizada en ellos es de frondas de Pteridium aquilinum. Para las semillas de café colocadas en los almacigos, se requieren de 30 a 40 días para su germinación.

El trasplante a los viveros se hace en junio y las plantas de café permanecen en este último durante un año.

En el almacigo instalado en el ejido "La Esperanza" en Tuzamapan, Veracruz, por el Instituto Mexicano del Café, fueron reemplazadas varias porciones de la cubierta de P. aquilinum por hojas de plátano (Musa spp.). La sustitución fue hecha al azar y posteriormente la cubierta fue revisada periódicamente. El mantenimiento de la cobertura así como el deshierbe durante todo el periodo en el almacigo fueron realizados por personal del INMECAFE.

Cuando las plantas tuvieron cuatro meses, edad de trasplante a los viveros, se realizó un muestreo al azar de plantas que crecieron bajo una cobertura de P. aquilinum y de las que lo hicieron bajo una de Musa spp. El objetivo de este muestreo (N=72), es el de establecer si puede decirse que los parámetros altura, grosor y el cociente altura / grosor (índice de elongación relativo, i.e.r.) son iguales para ambos lotes. Se utilizaron pruebas no-paramétricas para la contrastación de hipótesis.

Un aspecto que podría ser muy importante es la modificación de los parámetros poblacionales a nivel de almácigo que pueda tener este helecho. Para discernir su influencia, se obtuvieron dos poblaciones de cafetos, una en contacto con frondas de P. aquilinum desde antes de su germinación; la segunda sin este contacto y usando como cobertura hojas de plátano (Musa spp.). Se entiende por el contacto a la utilización de frondas o hojas para la construcción de la cobertura de almácigos y viveros. Al inicio de la germinación de las semillas de café en los almácigos, la cobertura se coloca directamente sobre las semillas de café. Después de aproximadamente un mes de iniciada la germinación y cuando las plantas tienen una altura de aproximadamente 5 cm, la cobertura es suspendida sobre las plantas de café a una altura de 40 a 50 cm con cables y postes, permaneciendo a esta altura hasta el final de la etapa de almácigo. Por último, en el vivero, la cobertura está suspendida por cables y postes sobre las plantas de café a una altura aproximada de 1,5 m.

La población de cafetos en contacto desde antes de la germinación con las frondas de P. aquilinum y la población desprovista de éste, nos dará oportunidad de observar la influencia del helecho a dos niveles:

- i) en contacto con las frondas desde antes de la germinación de las semillas, y
- ii) desprovistas de este contacto durante el periodo de observación.

La medición de las plantas se realizó unos días antes de la transferencia de éstas a los viveros.

## PRUEBAS DE CAMPO EN VIVEROS

TRATAMIENTOS.- El criterio principal para la definición de los tratamientos fue su practicidad a gran escala. Se busca caracterizar, principalmente a la (s) sustancia (s) responsable del engrosamiento del tallo, observado en experimentos en el laboratorio y en almácigos.

En fracciones aisladas a partir de frondas de P. aquilinum, var. pubescens, se observan fenómenos de inhibición de la germinación y engrosamiento del tallo para semillas y plátulas respectivamente, (ver sección de resultados de pruebas de germinación en el laboratorio). En los experimentos en el vivero se busca entonces, el engrosamiento del tallo y cambios de altura de las plantas.

Como en la Fracción A se puede esperar la presencia de compuestos fenólicos, se decide incluir en los tratamientos del vivero experimental a los siguientes: para - hidroxibenzoquinona ( $10^{-2}$  M; 60 % de desactivación de tiamina) y otro tratamiento con ácido 3,4,5 - trihidroxibenzóico ( $10^{-3}$  M; 70 % de desactivación de tiamina).

Dado el gran número de posibilidades que existe para seleccionar a la (s) sustancia (s) químicas con actividad biológica, se incorporó al experimento en el vivero una preparación parcialmente purificada, que presenta una gran actividad sobre la inhibición de la germinación de semillas en experimentos de laboratorio (Fracción A).

Como la inhibición de la germinación de semillas, ejercida por las

sustancias contenidas en las frondas de P. aquilinum, puede ser selectiva, se consideró la inclusión de una serie de tratamientos en los cuales no se efectuó el deshierbe periódico. De esta manera, se esperó discernir el efecto de competencia de los efectos de inhibición del crecimiento ejercido directamente por P. aquilinum o bien la presencia de sinergismos.

Así, todos los tratamientos mencionados tuvieron una réplica que no fue limpiada de malezas.

En resumen, los tratamientos incluidos en el vivero experimental fueron:

<u>No. u.e.</u>	<u>Cobertura</u>	<u>Deshierbe</u>	<u>Tratamiento</u>
T - 1	Musa spp.	con	Fracción A
T - 2	<u>P. aquilinum</u>	con	Testigo
T - 3	<u>Musa</u> spp.	con	Testigo
T - 4	"	con	Hidroquinona
T - 5	"	con	á. Gálico
T - 6	"	sin	Fracción A
T - 7	<u>P. aquilinum</u>	sin	Testigo
T - 8	<u>Musa</u> spp.	sin	Testigo
T - 9	"	sin	Hidroquinona
T - 10	"	sin	á. Gálico

MODELO UTILIZADO, DISEÑO EXPERIMENTAL y  
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS

Para el análisis formal de los resultados, el primer paso es el establecer una ecuación para cada una de las observaciones (Cochran y Cox, 1957). Esta ecuación expresa a cada observación como la suma de cuatro componentes:

- i) un promedio general alrededor del cual cada observación fluctúa,  $\mu$  ;
- ii) un componente que refleja el efecto del tratamiento aplicado,  $\tau$  ;
- iii) un componente que refleje cierto efecto de ubicación de la unidad experimental, u. e., cuyos efectos, se presume, pueden ser distinguidos por el diseño,  $\beta$  ;
- iv) un componente residual, que representa a todas las otras fuentes que determinan a los resultados de la observación, i.e. el error experimental,  $e$  .

Conforme a lo anterior, podemos escribir una ecuación para el modelo planteado:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + e_{ij}$$

donde el subíndice 'i' denota al tratamiento aplicado

el subíndice 'j' señala la ubicación de la observación,

Así, por ejemplo, la ecuación

$$Y_{3,4} = \mu + \tau_3 + \beta_4 + e_{3,4}$$

nos indica el valor observado 'y' para el parámetro L  
i.e. alturas correspondientes al tratamiento 3, ubicación 4,

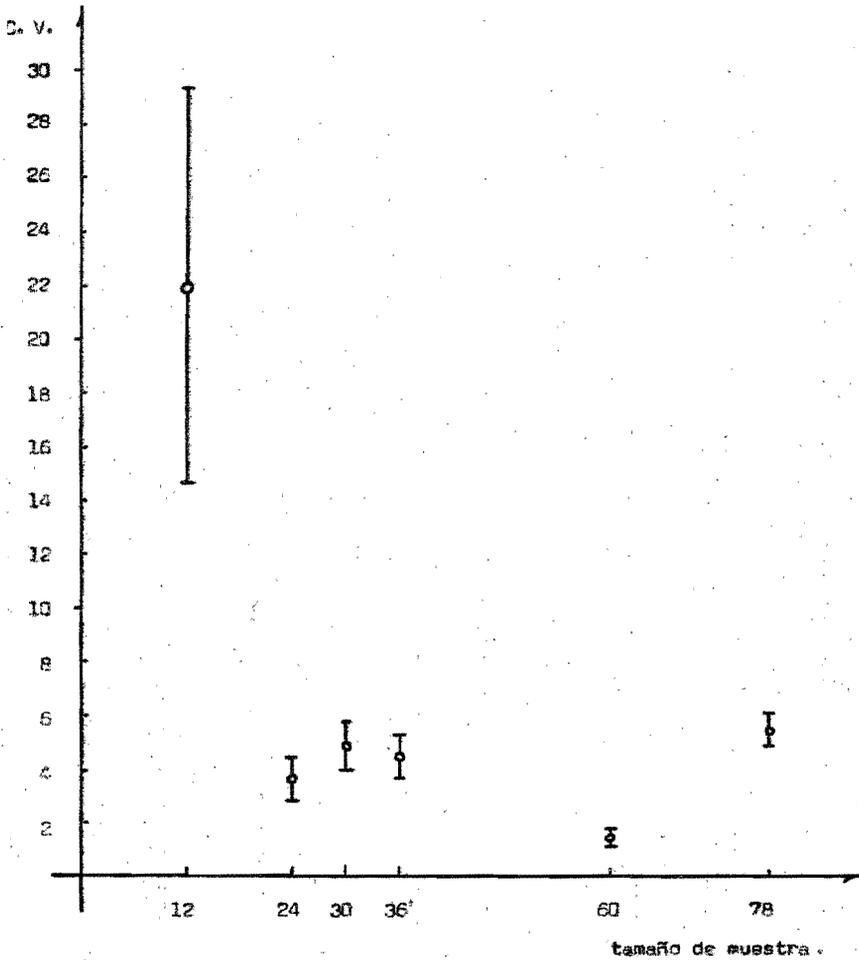
Con este modelo, los efectos debidos a la ubicación de la unidad experimental, u.e., dentro de un conjunto de tratamientos, un bloque, i.e. componente iii, puede ser eliminado de las diferencias debidas a los efectos de los tratamientos. Si esta eliminación no fuera posible, estas diferencias serían una contribución al error experimental, e, (componente iv).

De esta forma se obtendrían estimaciones menos exactas de los efectos de los tratamientos. Estas estimaciones están constituidas por las diferencias observadas entre los tratamientos que forman un solobloque.

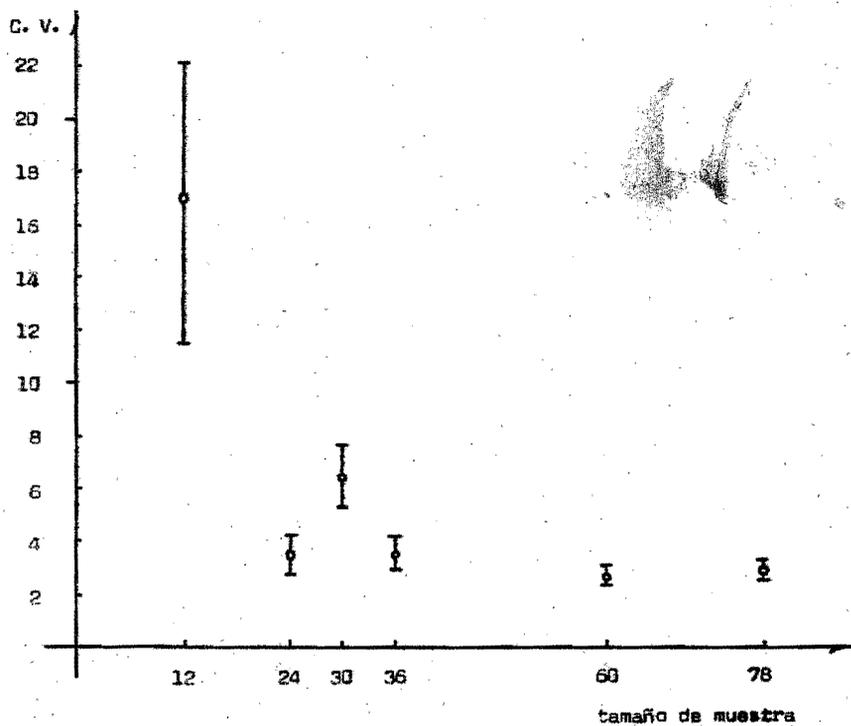
Un postulado del modelo planteado es la aditividad del efecto del tratamiento con el efecto del bloque. Si tomamos la diferencia entre dos observaciones de un mismo bloque, por ejemplo  $Y_{2j}$  'y'  $Y_{3j}$  tendremos la relación:  $Y_{2j} - Y_{3j} = (\mu + \tau_2 + \beta_j + e_{2j}) - (\mu + \tau_3 + \beta_j + e_{3j})$ , de donde :

$$Y_{2j} - Y_{3j} = \tau_2 - \tau_3 + e_{2j} - e_{3j} \quad \dots \text{ igualdad (1)}$$

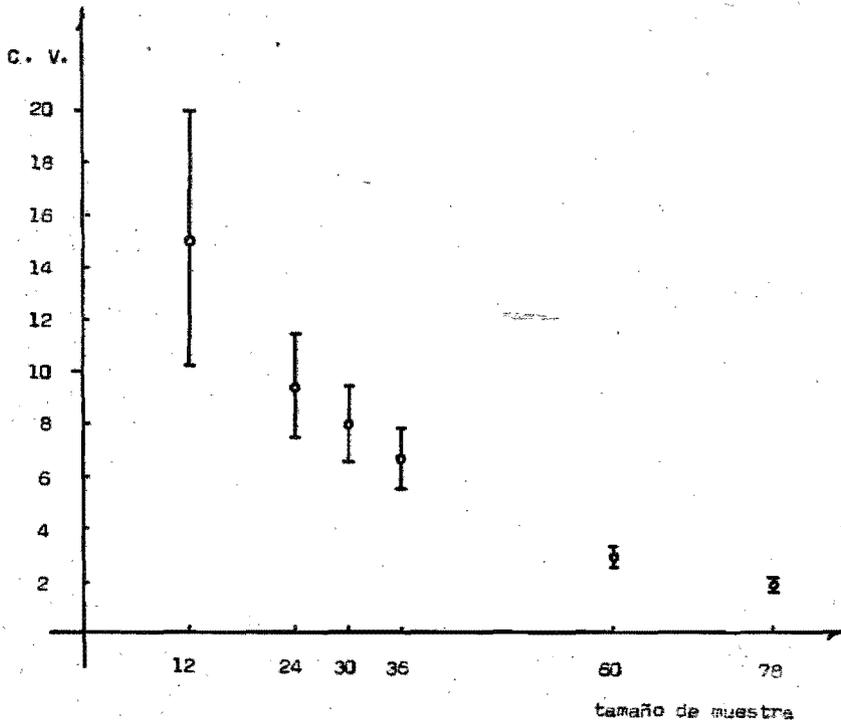
Podemos observar que el efecto de bloque,  $\beta$ , es anulado y ya no figura en el segundo miembro de la igualdad (1). De esta forma, podemos afirmar que una de las implicaciones del modelo es que las diferencias entre los efectos de dos tratamientos es la misma en todos los bloques experimentales.



Coefficiente de Variación en función del tamaño de muestra para las alturas de plantas de café. Para cada punto se indican los intervalos de confianza al 95 % ( ver sección de métodos estadísticos para su explicación )



Coefficiente de Variación en función del tamaño de muestra para los grosores de plantas de café. Para cada punto se indican los intervalos de confianza al 95 % ( ver sección de métodos estadísticos para su explicación )



Coeficiente de Variación en función del tamaño de muestra para el cociente altura / grosor ( i.e.r. ). Para cada punto se indican los intervalos de confianza al 95 % ( ver la sección de métodos estadísticos )

Tamaño de muestra necesario para detectar una diferencia "verdadera" dada, entre promedios (Sokal y Rohlf, 1969).

A partir de las mediciones realizadas para determinar el tamaño óptimo de muestra, sabemos que el coeficiente de variación para las alturas y los grosores es de aproximadamente 3.5 %. Para determinar el número de plantas que necesitan utilizarse en cada tratamiento para estar 80 % seguros de detectar una diferencia del 5 % entre dos de los 10 promedios al 1 % de nivel de significación, se puede utilizar la relación:

$$n \geq 2 \left( \frac{\sigma}{\delta} \right)^2 \left\{ t_{\alpha[\nu]} + t_{z(1-p)} \right\}^2$$

Donde:

- $n$  = número de réplicas,
- $\sigma$  = desviación estandar paramétrica,
- $\delta$  = la diferencia verdadera más pequeña que se desea detectar,
- $\nu$  = grados de libertad de la desviación estandar muestral,
- $\alpha$  = nivel de significación, y
- $p$  = probabilidad de que las diferencias sean significativas

$t_{\alpha[\nu]}$  y  $t_{z(1-p)}$  son los valores tabulados a dos colas, con ' $\nu$ ' grados de libertad y probabilidades ' $\alpha$ ' y ' $1 - p$ ', respectivamente.

En nuestro caso tenemos que  $a = 10$  y la desviación estandar tendrá  $\nu = a (n - 1)$  grados de libertad.

Sí resolvemos iterativamente tendremos:

+ Se plantea como un tamaño razonable de muestra  $n = 12$ , entonces

$$\nu = 10 (12 - 1) = 110$$

Como el coeficiente de variación (C.V.), es igual a 3.5 %,  $s = 3.5 \bar{x} / 100$ , y  $\delta = 5 \%$  de  $\bar{x}$ , esto es  $\delta = 5 \bar{x} / 100$

Si se utiliza a "s" como una estimación de  $\sigma$ , obtendremos

$$\frac{\sigma}{\delta} = \frac{3.5 \bar{x} / 100}{5 \bar{x} / 100} = \frac{3.5}{5}$$

Así:

$$n \gg 2 \left( \frac{3.5}{5} \right)^2 \left\{ t_{0.01} [110] + t_2 (1 - 0.80) [110] \right\}^2$$

$$= 2 (0.49) \left\{ 2.624 + 0.846 \right\}^2 = 11.80$$

?



## NÚMERO DE REPETICIONES DE CADA UNIDAD EXPERIMENTAL

Independientemente de la fuente de los errores experimentales, la repetición de los experimentos reduce sistemáticamente el error asociado a la diferencia entre los resultados promedio de diferentes tratamientos. Lo anterior se cumple siempre y cuando se prevea la aleatorización de los tratamientos, para evitar que alguno de ellos se vea afectado por algún otro factor que no sea el de los tratamientos aplicados. De esta forma el efecto aleatorio entre las repeticiones de un tratamiento tiende a cancelarse conforme aumenta el número de sus repeticiones.

La tasa con la que el error experimental es reducido puede predecirse. El parámetro básico usado para la estimación del error experimental es la varianza del error por unidad experimental. Esta, se define como el valor esperado del cuadrado del error que afecta a la observación de una sola unidad experimental (Cochran y Cox, 1957.).

A la raíz cuadrada de este valor se le llama error estándar por unidad experimental. Si  $\sigma^2$  es la varianza del error por u.e. y tenemos 'r' repeticiones de la u.e., la varianza del error entre la diferencia de dos promedios es:

$$\frac{2\sigma^2}{r}$$

y el error estándar correspondiente es:  $\sqrt{2\sigma^2}/\sqrt{r}$

La probabilidad de obtener un resultado significativo depende del error estándar por u.e., del número de repeticiones 'r' y del número de grados de libertad, 'n', que posea el experimento para la estimación de la

varianza del error.

El error estandar verdadero por unidad experimental,  $S_{\bar{y}}$ , puede ser estimado recurriendo a la relación:

$$S_{\bar{y}} = \sqrt{\frac{\text{C.M. entre grupos}}{n}}$$

donde C.M. es el cuadrado medio del error, derivado del análisis de varianza (ANOVA) para las mediciones realizadas para determinar el tamaño óptimo de muestra, y

$n$  = grados de libertad asociados a la determinación del error, i.e. tamaño de muestra del promedio ' $\bar{y}$ '

Para las alturas de las plantas de café medidas, el error estandar verdadero es igual a 4.27 % del promedio del experimento; y para los grosores, es igual a 3.16 % del promedio. Si suponemos que existan 4 repeticiones de cada tratamiento, para determinar la probabilidad de obtener un resultado significativo si la diferencia verdadera que deseamos detectar es del 12 % para las alturas y del 10 % para los grosores, podemos usar el siguiente método iterativo:

Si ' $d$ ' es la diferencia observada y ' $\delta$ ' es la diferencia verdadera entre los promedios de un tratamiento experimental y el de un testigo, el error estandar verdadero de ' $d$ ' es igual a :

$$\sqrt{\frac{2\sigma^2}{r}}$$

De esta forma, sustituyendo los valores estimados para las mediciones obtenemos:

Para los grosores:

$$\sqrt{\frac{2 (3.16 \%)^2}{4}} = 2.23 \%, \text{ y}$$

para las alturas:

$$\sqrt{\frac{2 (4.27 \%)^2}{4}} = 3.02 \%$$

En la práctica, no conocemos el valor de  $\sigma$ , y en su lugar usamos a la estimación de la desviación estándar por unidad experimental,  $s$ . Asumiremos que  $s$  es igual a  $\sigma$ , a pesar de que  $s$  es realmente una variable aleatoria.

La prueba de significación para 'd' se hace por medio de una prueba de T de Student, con  $(n - 1)$  grados de libertad, i.e. 30

Para determinar el valor que 'd' debe alcanzar para ser significativa, se multiplica el valor del error estándar de 'd', i.e. 2.23 % para los grosores y 3.02 % para las alturas, por el valor significativo de  $t$ .

Si la prueba de significación se realiza a un nivel del 5 %, y se trata de una prueba a dos colas (<sup>o</sup>), el nivel de significación al 5 % en las tablas estándar, para treinta grados de libertad es:

$$t_{0.05} [30] = 2.042$$

(<sup>o</sup>) Una prueba a dos colas se realiza cuando los valores de 'd' ya sean positivos o negativos, serán considerados como significativos. Los valores tabulados están a dos colas.

De tal forma que si 'd' se espera significativa, debe alcanzar el valor:

$$d \geq \sqrt{\frac{2 \cdot 0^2}{r}} \quad t_{\alpha[\nu]} \approx \sqrt{\frac{2 \cdot s^2}{r}} \quad t_{\alpha[\nu]}$$

Así, para los grosores:

$$d \geq \sqrt{\frac{2 \cdot (3.16)^2}{4}} \quad (2.04) = 4.56 \%$$

y, para las alturas:

$$d \geq \sqrt{\frac{2 \cdot (4.27 \%)^2}{4}} \quad (2.04) = 6.16 \%$$

Así, la probabilidad de que el valor significativo, o valores mayores, de 'd' se presente, es la probabilidad de que el valor de 't', con 30 grados de libertad (g.l.), exceda a los valores

- 2.439, para los grosores y
- 1.934, para las alturas

En la tabla de los valores críticos de 't', la probabilidad de que un valor se encuentre fuera de los límites

- ± 2.439 (grosores) es de aproximadamente 0.020, y
- ± 1.934 (alturas) es de aproximadamente 0.070

De esta manera, las probabilidades buscadas son:

Para los grosores

$$p \left\{ 1 - 0.5 (0.02) \right\} = 0.90$$

para las alturas

$$p \left\{ 1 - 0.5 (0.07) \right\} = 0.965$$

Así, es alta la probabilidad de que una diferencia significativa pueda ser detectada en este experimento, en el caso de que ésta llegara a presentarse debido a los efectos de los tratamientos.

Para obtener el número de repeticiones 'r' requeridas para obtener una probabilidad dada 'p', de obtener un resultado significativo, el argumento utilizado para determinar el número de repeticiones, puede ser invertido. De esta forma tenemos:

$$r \gg 2 \left( \frac{\sigma}{\delta} \right)^2 (t_1 + t_2)^2$$

donde:

$\sigma$  = diferencia verdadera que se desea detectar,

$\delta$  = error estándar por unidad experimental

$t_1$  = valor significativo de T en la prueba de significación, y

$t_2$  = valor de T en tablas, correspondiente a  $2(1-p)$ ,

Dado que el número de grados de libertad en  $t_1$  y  $t_2$  depende de 'r' se debe de utilizar una solución iterativa, hasta que el valor más pequeño

de 'r' sea encontrado, tal que satisfaga a la ecuación anterior.

Si aplicamos la ecuación anterior utilizando los cálculos numéricos previos, podemos determinar el número de repeticiones que son requeridos para tener de 5 ocasiones, 4 con resultado significativo ( $p=0.80$ ).

Si tenemos,

para los grosores  $\delta = 10\%$  y para las alturas  $\delta = 12\%$  y a su vez, para los grosores  $\sigma = 3.16\%$  y para las alturas  $\sigma = 4.27\%$  y consideramos que el experimento tendrá 10 tratamientos, esto nos da  $n = 3(r - 1)$  grados de libertad para la estimación del error.

En la tabla T, el valor de  $t_1$  es el valor para una cola, al 5% de significación, mientras que el valor  $t_2$  es el valor para la probabilidad  $p = 1 - 0.80$ , y por lo tanto,

$$t_2 = 2(1 - p) = (1 - 0.80) = 0.40$$

Para iniciar la determinación, en el método iterativo debemos hacer una estimación inicial del valor de n; ya que no importa demasiado el que esta estimación no sea aproximada, empezaremos por  $n = 5$

$$t_1 = t_{0.05} [5] = 2.571 \quad \text{y} \quad t_2 = t_{0.40} [5] = 0.920$$

de tal forma

$$(t_1 + t_2)^2 = 12.187$$

Así:

$$r \geq 2 \left( \frac{\sigma}{\delta} \right)^2 \quad (12.187)$$

para grosores

$$r \geq 2 \left( \frac{3.16\%}{10.0\%} \right)^2 \quad (12.187) = 2.434$$

para alturas  $r \gg 2 \left( \frac{4.27 \%}{12.0 \%} \right)^2 (12.187) = 3.086$

En consecuencia, para el siguiente paso de la iteración se utilizará  $r = 4$  y  $3(4-1) = 9$  grados de libertad; y debemos verificar si 4 repeticiones son suficientes:

Para g.l. = 9

$$t_1 = t_{0.05} [9] = 2.262 \quad \text{y} \quad t_2 = t_{0.4} [9] = 0.883$$

Así:

$$(t_1 + t_2)^2 = 9.891$$

y el número de repeticiones  $r$ :

$$r \gg 2 \left( \frac{\sigma}{\delta} \right)^2 (9.891)$$

tenemos para los grosores:

$$r \gg 2 \left( \frac{3.16 \%}{10.0 \%} \right)^2 (9.891) = 1.975$$

y las alturas:

$$r \gg 2 \left( \frac{4.27 \%}{10.0 \%} \right)^2 (9.891) = 2.505$$

Para una nueva iteración, tomaremos  $r=3$  y  $3(3-1) = 6$  g.l.;

Para verificar si tres repeticiones son suficientes:

Para g.l. = 6

$$t_1 = t_{0.05} [6] = 2.447 \quad \text{y} \quad t_2 = t_{0.4} [6] = 0.906$$

Así:

$$(t_1 + t_2)^2 = 11.243$$

y el número de repeticiones  $r$ :

$$r \gg 2 \left( \frac{\sigma}{\delta} \right)^2 \quad (11.243)$$

Con la última expresión se obtiene,

para los grosores:

$$r \gg 2 \left( \frac{3.16 \%}{10.0 \%} \right)^2 \quad (11.243) = 2.245$$

y, para las alturas:

$$r \gg 2 \left( \frac{4.27 \%}{12.0 \%} \right)^2 \quad (11.243) = 2.847$$

Con esto se considera que se ha interado a estabilidad y así, se concluye que tres o más repeticiones deberán satisfacer las condiciones. Si consideramos a un experimento para el cual se tengan que efectuar 'r' repeticiones de cada tratamiento, los errores experimentales se deberán exclusivamente a las variaciones dentro de cada conjunto de tratamientos. Las variaciones encontradas de repetición a repetición, no contribuyen al error. No es necesario intentar reducir la variación de bloque a bloque. Este tipo de diseño se conoce, especialmente en Agricultura, como Bloques al azar.

El experimento fue montado en cuatro bloques diferentes, con diez tratamientos en cada uno. Existían cuatro repeticiones de cada tratamiento. Cada bloque contenía una repetición de los testigos. Así mismo, los tratamientos fueron asignados al azar dentro de cada bloque. Este experimento es del tipo Bloques completos al azar.

Las prácticas de cultivo fueron las utilizadas normalmente para este tipo de cultivo, como la instalación del vivero, la aplicación de fertilizantes, etc. Estas se realizaron conforme a las recomendaciones del trabajo "Breve Descripción del Campo Experimental de Garmica, Veracruz", publicado por el Departamento de Fomento Técnico del Instituto Mexicano del Café (Circular Técnica No. 7, sep. 1960).

La aplicación de los tratamientos se efectuó por aspersión foliar una vez cada dos días y las mediciones de altura y grosor de las plantas se efectuó una vez cada treinta días.

La variedad utilizada de Coffea arabica fue mundo novo.

En resumen, se requieren 4 repeticiones por tratamiento, un tamaño de muestra por unidad experimental de 16 plantas, con lo que se obtiene una  $p = 0.96$  de detectar una  $\delta = 12\%$  para las alturas, y para los grosores una  $p = 0.90$  para detectar una  $\delta = 10\%$ .

Así, la extensión más adecuada del vivero experimental deberá contener como mínimo:

640 plantas experimentales, repertidas en  
4 bloques, y un número total de  
40 unidades experimentales.

Además, cada u.e. estuvo separada de la contigua por tres hileras de plantas, y al final de cada bloque se colocaron ocho hileras de plantas. A su vez, los cuatro bloques experimentales fueron los que ocupaban la parte central de un conjunto de seis bloques, colocados paralelamente uno al otro, separados por un canal de riego entre cada uno de

ellos. La finalidad de la protección a lo largo de todo el perímetro del vivero experimental fue el de tratar de evitar el efecto de borde. El vivero experimental fue alambrado para tratar de evitar la influencia de otros factores.

### ARREGLO DE BLOQUES Y ALEATORIZACION DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

Diagrama del arreglo de bloques y aleatorización de las Unidades Experimentales dentro del vivero experimental instalado en la Congregación del Castillo, Distrito de Riego de Jalapa, Veracruz.

1	7	9	10
8	10	5	8
9	5	6	3
10	4	2	9
6	1	8	1
4	3	3	4
2	9	7	6
3	8	4	7
7	6	10	2
5	2	1	5

N —————

Para el análisis de los datos se recurrió al Análisis Funcional de Varianza, por Pruebas F Plantas en comparaciones de clases.

La metodología se discute en Little, T. y F. J. Hills, (1979).

La normalidad de la distribución de las mediciones realizadas para las plantas de café fue probada por medio de una prueba de bondad de ajuste por estadística de momentos (Sokal y Rohlf, 1969).

La metodología puede ser consultada en el apéndice de métodos estadísticos de este trabajo.

## PRUEBAS DE F PLANEADAS

Las pruebas F planeadas que se realizaron en las mediciones de los viveros al aplicarse el Análisis Funcional de Varianza, por comparaciones de clase fueron las siguientes:

- a.- Existe diferencia entre coberturas con P. aquilinum y Musa spp.

Tratamientos 2 Vs. 3

- b.- Idem, sin deshierbe

Tratamientos 7 Vs. 8

- c.- Influye el deshierbe en todos los tratamientos

Tratamientos 1,2,3,4,5 Vs. 6,7,8,9,10

- d.- El tratamiento con la Fracción A no se comporta como el que utiliza una cobertura de P. aquilinum

Tratamientos 1 Vs. 2

- e.- Idem, sin deshierbe

Tratamientos 6 Vs. 7

- f.- Puede el tratamiento con Quinona ser diferente al de una cobertura con P. aquilinum

Tratamientos 2 Vs. 4

- g.- Idem, sin deshierbe

Tratamientos 7 Vs. 9

- h.- Puede el tratamiento de Gálico ser diferente al que utiliza una cobertura de P. aquilinum

Tratamientos 2 Vs. 5

- i.- Idem, sin deshierbe

Tratamientos 7 Vs. 10



Para calcular la suma de cuadrados que será utilizado para las pruebas F planeadas en el ANOVA, utilizamos los coeficientes de comparación ( $c_i$ ), recurrimos a la expresión (Little y Hills, 1979.):

$$\text{Suma de Cuadrados, SC} = \frac{[\sum (c_i T_i)]^2}{r (\sum c_i^2)}$$

Donde  $c_i$  = coeficientes de comparación

$T_i$  = totales de tratamiento, y

$r$  = número de repeticiones

Cuando las comparaciones son independientes, reciben el nombre de ortogonales. Estas comparaciones involucran la partición de los grados de libertad y de las sumas de cuadrados para los tratamientos en comparaciones componentes. En nuestro caso los componentes serán las comparaciones de clase. Para la construcción de la tabla de los coeficientes de comparación, que resulta útil para comprobar la ortogonalidad y para el cálculo de las sumas de cuadrados, se consideraron las siguientes reglas:

- 1.- Si se van a comparar dos grupos de igual tamaño, simplemente se asignan los coeficientes + 1 a los miembros de un grupo y - 1 a los del segundo. No importa que grupo recibe los coeficientes positivos.
- 2.- En la comparación de grupos que contienen diferentes números de tratamientos, se asigna al primer grupo tantos coeficientes como tratamientos tenga el segundo y viceversa, cambiando de signo.
- 3.- Se reducen los coeficientes a los enteros más pequeños que sea posible (Little y Hills, 1979).

## ANÁLISIS DE LOS REQUERIMIENTOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

Los supuestos analizados para justificar el empleo del ANOVA en el análisis estadístico de los resultados fueron:

- 1.- Los términos del error son aleatoria, independiente y normalmente distribuidos,
- 2.- Las varianzas de las diferentes muestras son homogéneas,
- 3.- Las varianzas y las medias de las distintas muestras no están correlacionadas, y
- 4.- Los efectos principales son aditivos.

Para el primer conjunto de mediciones, para las alturas de las plantas en el vivero, se realizó el análisis del cumplimiento de los supuestos del ANOVA.

1.- Con respecto al primer supuesto, para mayor seguridad contra violaciones evidentes, se llevó a cabo una aleatorización del diseño experimental. En este caso, la asignación aleatoria de los tratamientos a las unidades experimentales dentro de cada bloque.

Para comprobar si los términos del error satisfacen a esta condición, se removieron los efectos de tratamiento, de bloque y además la media general. Con los términos del error se efectuó una prueba de bondad de ajuste a una distribución normal por estadística de momentos.

Para probar la hipótesis nula de la distribución aleatoria e independiente de los términos del error se recurrió a una tabla de contingencia  $2 \times 4$ ,

utilizando la frecuencia de datos inferiores a la media estandarizada igual a cero para los tratamientos con deshierbe y sin deshierbe, i.e. tratamientos del 1 al 5 y del 6 al 10, respectivamente.

2.- Para probar que las varianzas de las diferentes muestras son homogéneas, se utilizó la prueba de  $X^2$  de Bartlett, cuyo resultado se incluye en cada tabla de resultados ANOVA.

3.- El supuesto de la independencia entre medias y varianzas se contrastó con un ajuste por mínimos cuadrados a un modelo lineal.

De éste, se determinó el coeficiente de regresión, R:

$$R = \frac{a \sum Y_i + b \sum X_i \cdot Y_i - (\sum Y_i)^2 n^{-1}}{\sum (Y_i^2) - (\sum Y_i)^2 n^{-1}}$$

para la ecuación:

$$Y = a + b X$$

El valor de 'R' se presenta sobre cada tabla de resultados ANOVA.

Se rechazó el que las medias y las varianzas no están correlacionadas si el coeficiente de regresión, R, excedió a 0.60.

4.- Por último, el criterio de aditividad, requerido para satisfacer al modelo lineal planteado para el diseño experimental, se contrastó con la Prueba de Tukey (Sokal y Rohlf, 1969).

Para efectuar la prueba de significación de la aditividad de cualquiera de los tratamientos, primero se agruparon los totales de cada combinación de tratamientos y se calcularon los coeficientes marginales. Las combinaciones de tratamientos fueron las parejas de tratamientos utilizados para

efectuar las pruebas de F planeadas en el Análisis Funcional de Varianza.

A pesar de que se encontró que la aplicación del ANOVA está justificada, se incluyó en el análisis de los datos una prueba no paramétrica, de dos criterios de clasificación, equivalente al ANOVA de dos criterios.

Esta prueba fue el método de Freedman para bloques completos al azar (Sokal y Rohlf, 1969).

## RESULTADOS

### CARACTERIZACION TENTATIVA DE LOS COMPONENTES DE LAS FRACCIONES OBTENIDAS DE P. AQUILINUM

En la fracción A obtenida a partir de un hidrolizado de frondas de P. aquilinum, por arrastre con vapor (ver sección de materiales y métodos), se obtiene un reacción positiva para la presencia de quinonas (NaOH - ETOH 50 %, Goodwin, 1976).

La observación anterior no se contraponé con la observación de una banda de absorbancia en el ultravioleta ( $\lambda_{\text{max.}}^{\text{H}_2\text{O}} = 275 \text{ nm}$ ), característica para fenólicos monosustituídos (Zoulla, et al. 1958), que puede corresponder a una quinona simple.

Considerando que esta fracción A puede contener fenólicos monosustituídos se realizó una reacción con reactivo de Millon que precipita grupos fenólicos y albúminas, y se repite la lectura del espectro de absorbancia para el sobrenadante de la reacción, sin la obtención de la banda de absorbancia a 275 nm.

El espectro de absorbancia para el destilado por presión reducida de la Fracción A, muestra el mismo espectro que el de la fracción A, lo mismo que la fracción 1.

Para la fracción A se obtiene una reacción positiva con Ninhidrina, obteniéndose un pigmento azul -violeta. Este reactivo oxida a los compuestos aminados y reacciona con el amoniaco produciendo el pigmento.

Los compuestos tipo flavonas ( $\lambda_{\text{max.}}^{\text{etoh}} = 275 \text{ nm}$ ; log E= 4.29) y

quinonas ( $\lambda_{\text{max}}^{\text{etoh}} = 246$  y  $288$  nm;  $\log E = 4.42$  y  $2.5$  respectivamente), no pueden excluirse de estar presentes en la mezcla (Goodwin, 1976).

A continuación se presentan los espectros de absorbancia obtenidos en la región ultravioleta del espectro. Son los primeros máximos detectados. Se utilizó un espectrofotómetro Perkin - Elmer Coleman 120 de doble haz. Para las lecturas abajo de  $200$  nm, se utilizó una atmósfera seca de Argón.

A partir de una modificación al método de extracción (Dawes, et al., 1973), se intentó caracterizar a los compuestos fenólicos de la fracción A. La modificación está basada en que los compuestos fenólicos son más solubles en bases que en ácidos y que, subsecuentemente, serán más solubles en éter dietílico en partición ácida.

La fracción A se lleva a  $2$  M con HCl y se coloca a partición con éter dietílico. La fase éter contiene los fenólicos libres.

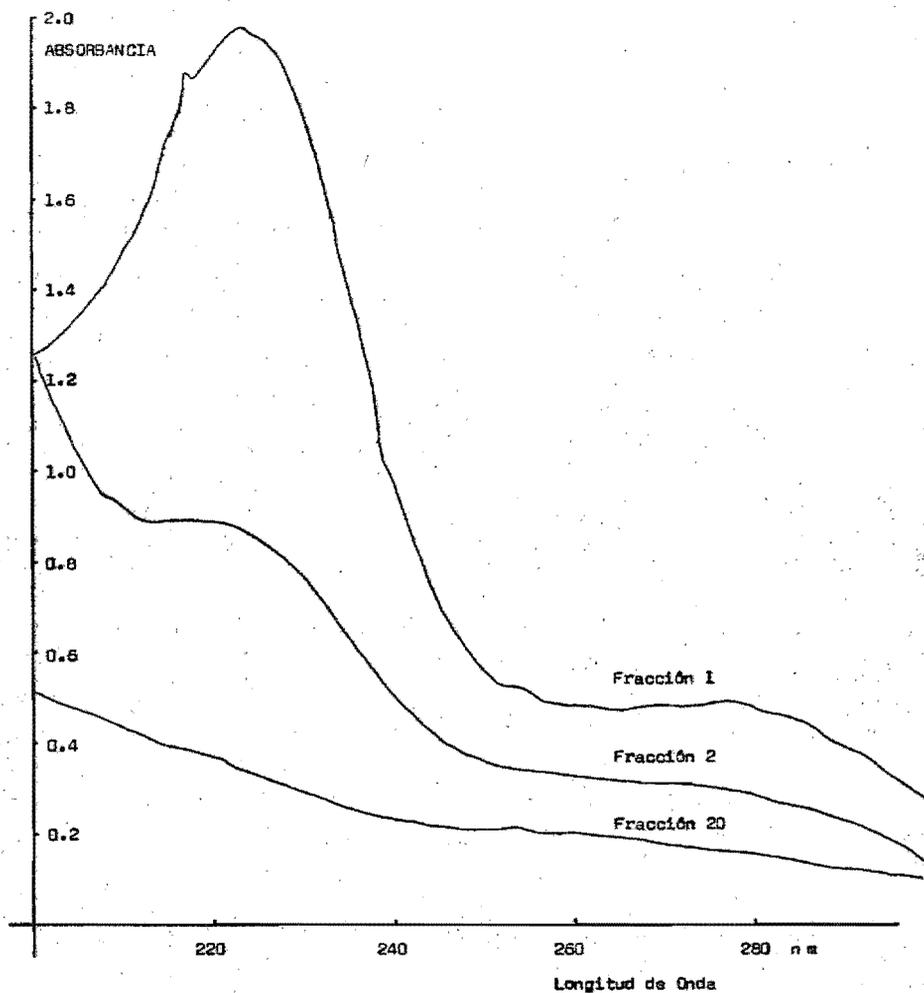
La fase éter se utiliza para cromatografía en papel.

La muestra se aplica sobre papel Whatman No. 1 analítico para cromatografía ( $25$  cm) y se corre en una mezcla alcohol - ácido (BAW): n - butanol: ácido acético: agua ( $6: 1: 2$ ) y en la dirección perpendicular con ácido acético al  $2\%$ . Una vez desarrollado el cromatograma muestra bajo luz ultravioleta ( $253$  y  $366$  nm) manchas azules tenues con valores  $R_f$  señalados a continuación.

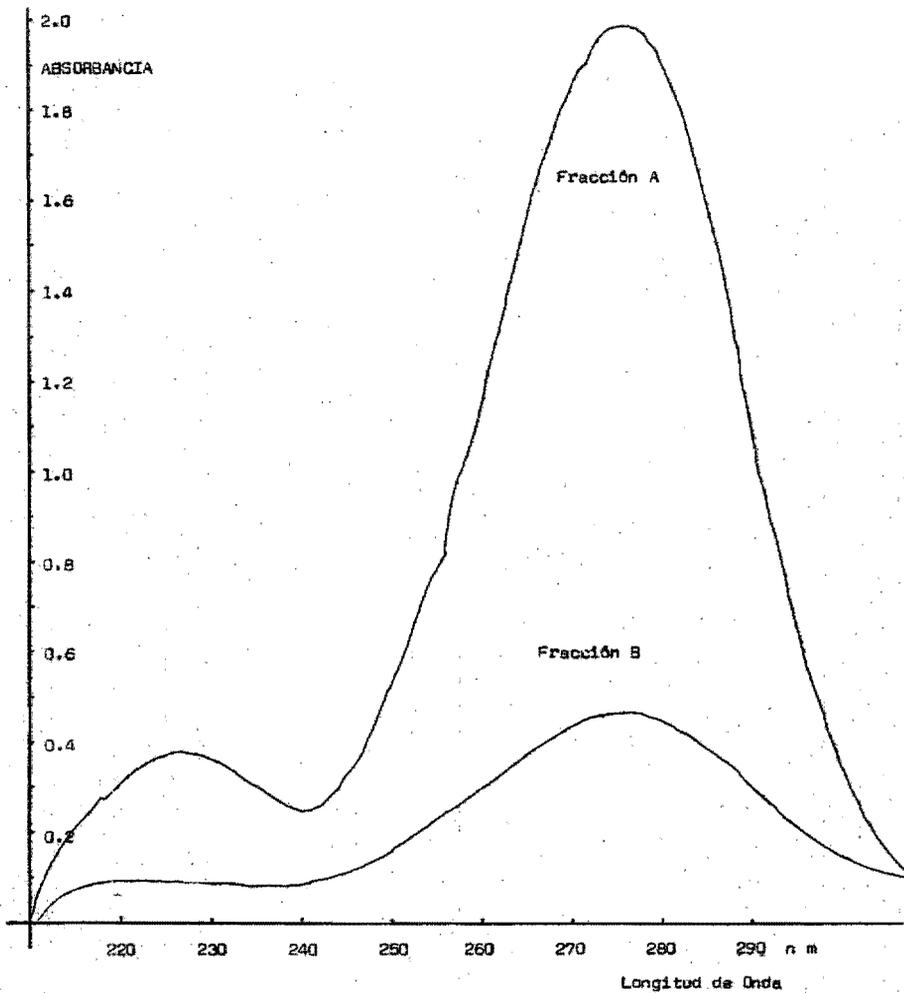
SOLVENTE		COMPUESTO POSIBLE	Rf REPORTADO	
BAW	A. Ac.		BAW	A. Ac.
0.3 - 0.4	0.15 - 0.2	$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\overset{\text{OH}}{\text{C}}=\text{CHCOOH}$ ác. cafeico	0.4	0.08
			(Bohm y Tryon, 1967.)	
		$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}=\text{CHCOOH}$ ác. p-cumárico	0.42	0.35
			(Bohm y Tryon, 1967.)	
0.4 - 0.5	0.3-0.35	$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{OCH}_3)-\text{CH}=\text{CHCOOH}$ ác. ferúlico	0.5	
			(Dawes <i>et al.</i> 1973).	
0.8 - 0.85	0.7 - 0.75	Esteres Cinámicos	0.56 - 0.8	0.6 - 0.85
			(Goodwin, 1976)	

La caracterización es tentativa. Debe ser confirmada por espectroscopía y cromatografía de gases.

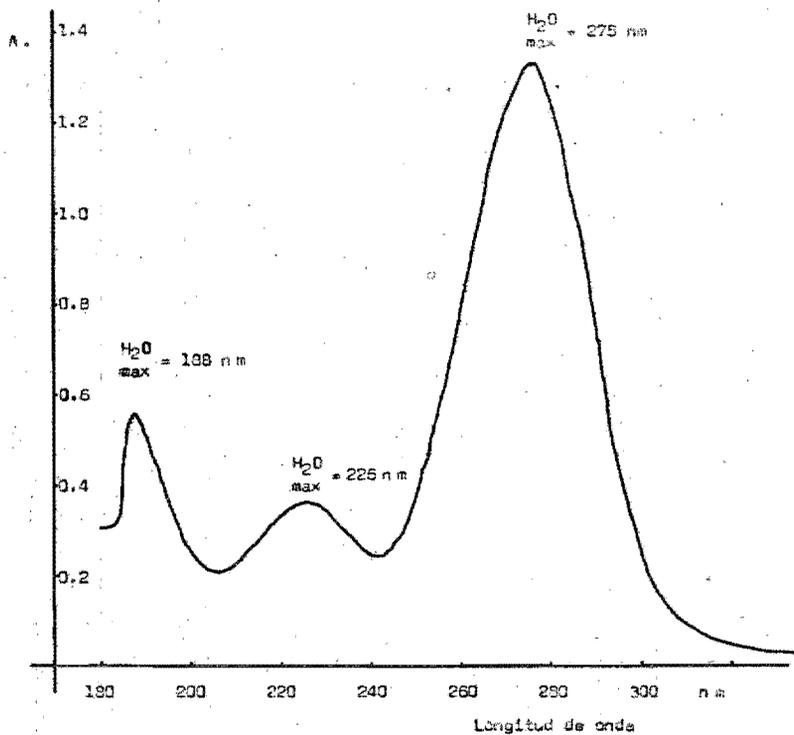
El carácter prevalente de estos compuestos parece ser su naturaleza fenólica.



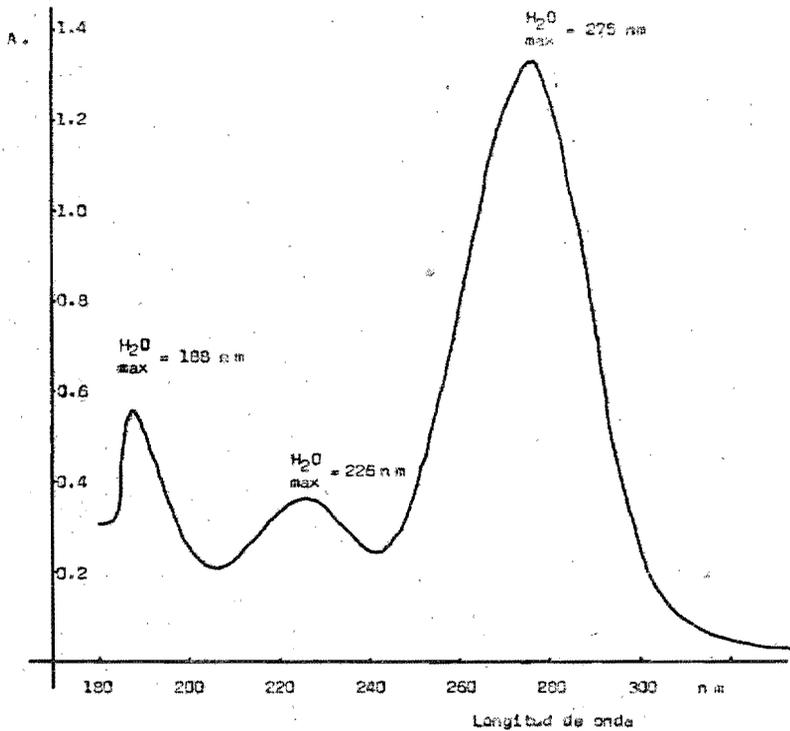
ESPECTROS DE ABSORBANCIA para las fracciones 1, 2 y 20, obtenidas por arrastre con vapor de un homogenizado de frondas de *P. aquilinum*, según el orden de destilación. Las lecturas se hicieron de las fracciones sin diluir, llevándolas a 2.9 N con HCl, que también se usó como blanco. ( ver sección de pruebas de germinación ).



ESPECTROS DE ABSORBANCIA para la fracción A y la fracción B.  
 Se aprecian dos primeros máximos de absorbancia, a 275 nm y a 226 nm.  
 La banda correspondiente a 275 nm puede corresponder a un grupo fenólico monosustituido. La ocurrencia de esta banda y la que se encuentra a 226 nanómetros sugiere la presencia de quinonas. Los compuestos tipo flavona también presentan un máximo a 275 nm. Las soluciones fueron al 1.0 % en HCl 2.9 N. Como referencia se usó HCl 2.9 N.



Espectro de Absorbancia del destilado por presión reducida de la fracción A. Esta preparación conserva la capacidad de inhibir la germinación de semillas de lechuga Lactuca sativa, variedad Dark green cos.



Espectro de Absorbancia del destilado por presión reducida de la fracción A. Esta preparación conserva la capacidad de inhibir la germinación de semillas de lechuga Lactuca sativa, variedad Dark green cos.

## PRUEBAS DE GERMINACION EN EL LABORATORIO

Para establecer los efectos de la inhibición por sales y así poder establecer si las fracciones obtenidas a partir de Pteridium aquilinum presentaban una inhibición que no estuviera dada por efectos de potencial osmótico, se colocaron 400 semillas en dos repeticiones.

Los resultados fueron:

MEDIO	SEMILLAS		PORCENTAJE DE INHIBICION
	GERMINADAS	NO GERMINADAS	
KNO <sub>3</sub> 1.0 %	57	143	71.5
NaNO <sub>3</sub> 1.0 %	2	198	99.0
KNO <sub>3</sub> 0.1 %	193	7	3.5
NaNO <sub>3</sub> 0.1 %	144	6	3.0
H <sub>2</sub> O X	137	13	8.7

Como los extractos a partir de P. aquilinum mostraron en todos los casos valores del orden de 0.015 M, podemos descartar a posibles efectos de inhibición debidos a diferencias de potencial osmótico.

No se considera necesario desinhibir a las semillas por choque osmótico, ya que no existe una diferencia significativa entre las semillas germinadas en solución al 0.1 % y las germinadas en agua destilada

( H<sub>2</sub>O X ),  $X^2 = 5.76$ , g.l.=2;  $X^2_{0.05(2)} = 5.99$ .

Sin embargo, la germinación es inhibida cuando la concentración de sales es de 1.0 % (p/v),  $X^2 = 5.75$ , g.l. = 3;  $X^2_{0.05(3)} = 13.0$ . La prueba estadística utilizada es la Chi cuadrada para la diferencia entre proporciones (ver apéndice de métodos estadísticos para su discusión).

Pruebas de germinación utilizando semillas de avena var. Nodaway.

Las condiciones de germinación se detallan en la sección de materiales y métodos.

Los resultados fueron los siguientes:

	% germinación	Altura promedio del tallo
Testigo H <sub>2</sub> O X (N=46)	50 %	18 cm.
Extracto crudo ( N=41 )	53.6 %	5.93 cm.
Fracción A (N=24)	63.0 %	6.49 cm.

Los tratamientos difieren en la altura del tallo con respecto al testigo germinado en agua destilada (ANOVA, un criterio,  $F = 12.5$ ,  $F_{0.05} = 4.24$ ).

Sin embargo, los tratamientos de semillas germinadas en la Fracción A y aquellas germinadas en el extracto crudo, en lo que respecta a la altura del tallo (ANOVA, un criterio,  $F = 0.09$ ,  $F_{0.05} = 4.08$ ).

En lo que respecta a los porcentajes de germinación no se encuentran diferencias significativas entre el testigo y cualquier tratamiento

( $X^2 = 1.0$ , g.l. = 3,  $X^2_{0.05(3)} = 7.815$ ). La prueba estadística es la Chi cuadrada para la diferencia entre proporciones. (ver sección de métodos estadísticos para su discusión).

Las semillas de lechuga var. Dark green cos, muestran una inhibición completa cuando germinan en el extracto crudo o en la fracción A (los testigos muestran un 94 % de germinación).

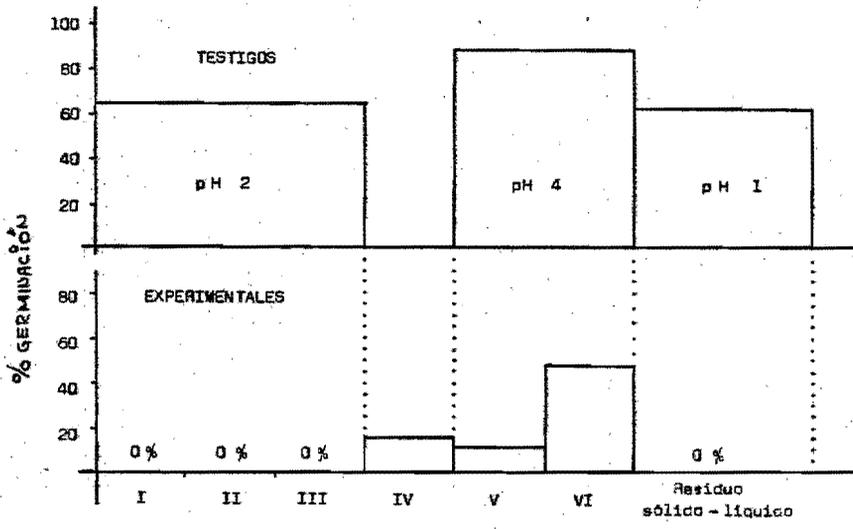
En los experimentos de germinación con Lipidium sativum para extractos de fronda madura seca (extracto crudo), el porcentaje de germinación es de 0.0 %. El control 'paralelo' con semillas de lechuga en agua destilada mostró 90 % de germinación.

#### Pruebas de Germinación Con Semillas de Lechuga, var. Dark green cos

Las condiciones de germinación fueron discutidas anteriormente.

Los siguientes resultados fueron obtenidos:

Testigos H <sub>2</sub> O X	95 % de germinación
Extracto Crudo . . .	0.0 % de germinación
Destilado por Presión Reducida, con mezcla azeotropa de la Fracción A	0.0 % de germinación
Con el residuo de la destilación a presión reducida del caso anterior	0.0 % de germinación
Destilado a presión reducida, sin mezcla azeotropa, de la fracción A	0.0 % de germinación



Resultados de las pruebas de germinación con semillas de lechuga var. Dark green cos con las fracciones obtenidas por arrastre de vapor de un hidrolizado de *P. aquilinus*. Fracciones de 50 ml.

Con el residuo de la destilación a presión reducida del caso anterior	50 % de germinación (NOVIABLES)
Destilado más Residuo, del caso anterior	40 % germinación (NO VIABLES)
Prueba con la Fracción A	0.0 de germinación
Prueba con la fracción 1	0.0 % de germinación

Durante la preparación del Extracto Crudo, pudo observarse que las sustancias responsables de la inhibición pueden ser extraídas completamente con agua, al intentar separar las fitotoxinas por su solubilidad en ella. Utilizando 5.5 g, peso seco, de P. aquilinum var. pubescens (Los Tuxtlas) se obtuvieron los siguientes resultados:

1.- El molido de frondas, 5.5 g se remoja por 48 horas en agua (75 ml) destilada. El sobrenadante de la centrifugación de la mezcla anterior se utiliza para dos repeticiones de una prueba de germinación con semillas de lechuga.

Se obtiene

17 % de germinación y 0.0 % en la repetición

2.- Con el residuo sólido y 75 ml de agua destilada, después de una hora se repite el procedimiento anterior.

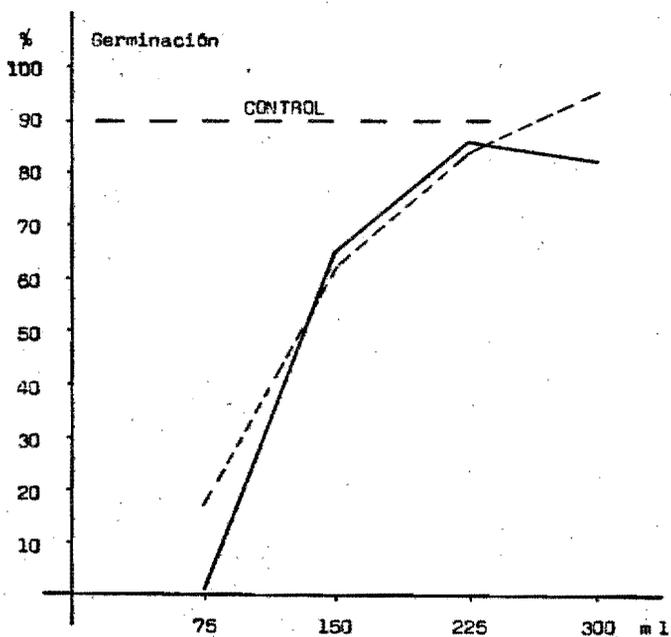
Se obtiene

62.1 % y 65 % de germinación

3.- Se repite el procedimiento anterior por tercera vez.

Se obtiene

86 % y 88 % de germinación



Porcentaje de Germinación con respecto al volúmen utilizado para preparar el Extracto Crudo ( fracciones de 75 ml en cada caso). Semillas de lechuga, var. Dark green cos. Se indican periodos de extracción de una hora ( - - - - ) y de 48 horas ( ——— ) con agua destilada.

4.- Se coloca otra prueba de germinación, conservando en ella el residuo sólido de P. aquilinum, después de haber sido lavado tres veces.

Se obtiene

96.2 % y 81 % de germinación

En los lotes con semillas de control con agua destilada, se obtiene

91 % de germinación (promedio)

Las semillas no viables de lechuga, mostraban una atrofia completa de la raíz y sólo mostraban un par de hojas.

Por otro lado, la actividad del destilado a presión reducida sobre la germinación, i.e. 0.0 % de germinación, se pierde si la solución se evapora. Colocando 30 ml de esta fracción y concentrando a 30 ° C, hasta un volumen de 2 ml y llevado a su volumen original con agua destilada, se obtiene 100 % de germinación con esta solución, utilizando semillas de lechuga, var. Dark green cos.

Se observó la conservación de la actividad de las frondas secas, sin moler, por más de un año en el laboratorio, después de haber sido recolectadas.

Las curvas de germinación en función de las fracciones obtenidas por arrastre con vapor se incluyen a continuación.

En la fracción I y en la A se observan efectos de inhibición de la germinación de una forma sistemática. En otras fracciones se observa una inhibición del crecimiento y aumento del grosor de la raicilla y la plántula. Estas diferencias fueron significativas con respecto a los testigos germinados en agua destilada.

Destilación por arrastre con vapor de 15 g (peso seco) de un molido de frondas de P. aquilinum. Fracciones de 25 ml Semillas de lechuga, var. Dark green cos.

FRACCION	% DE GERMINACION
I	12.0
II	20.0
III	44.0
IV	88.0
V	48.0
VI	96.0
VII	87.5
VIII	80.7
IX	79.0
X	80.0
XI	69.1
TESTIGOS H <sub>2</sub> O X	98.1
RESIDUO	
Sólido	96.8
Líquido	0.0

En las plántulas de la fracción IV se observa hipertrofia de la raicilla (a lo ancho) y atrofia de los pelos absorbentes.

Destilación por arrastre con vapor de un hidrolizado ácido de un molido de frondas de P. aquilinum (20 g peso seco)

FRACCION (50 ml)	%GERMINACION	p <sup>H</sup> de la FRACCION
I	0	2
II	0	2
III	0	2
IV	16	3
V	12	4
VI	48	4
Residuo (sólido-líquido)	0	1
<u>TESTIGOS</u>		
H <sub>2</sub> O x	86	
p <sup>H</sup> 1 (HCl)	62.7	
p <sup>H</sup> 2 "	64.25	
p <sup>H</sup> 4 "	88.6	

Para la hidrólisis ácida del molido de frondas se utilizó ácido clorhídrico 6 N a ebullición con reflujo durante 4 horas.

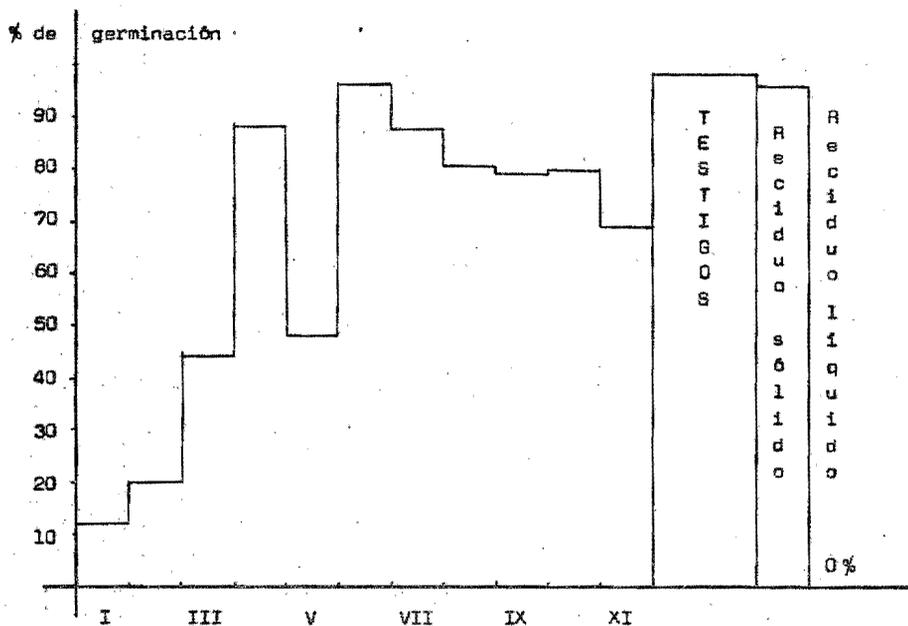
Se observó un poco de carbonización de la muestra.

Destilación por arrastre con vapor de un hidrolizado ácido de un molido de frondas de P. aquilinum (20 g peso seco)

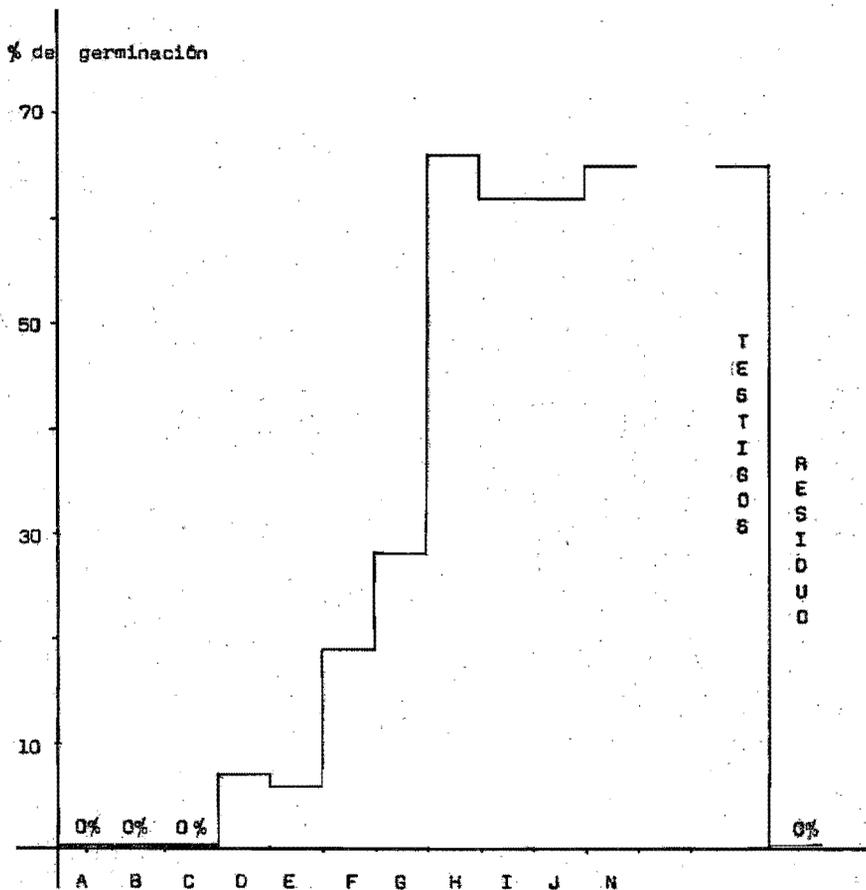
FRACCION	% GERMINACION
A	0.0
B	0.0
C	0.0
D	7.0
E	6.0
F	19.0
G	28.0
H	66.0
I	62.0
J	62.0
N	65.0
TESTIGOS H <sub>2</sub> O X	64.25
RESIDUO	0.0

Para la hidrólisis ácida del molido de frondas se utilizó ácido clorhídrico 2.9 N a ebullición con reflujo durante 3 horas.

No se observó carbonización de la muestra como en el caso de la hidrólisis con HCl 6 N. El pH de la solución donde germinaron los testigos se ajustó a 2.0 con HCl.



Porcentaje de germinación con respecto a las fracciones obtenidas por arrastre con vapor de un molido de frondas de *P. aquilinum* ( 15 g peso seco, fracciones de 25 ml ). En las plántulas de la fracción IV se observa hipertrfia de la raicilla ( a lo ancho ) y atrofia de los pelos absorbentes .



Porcentaje de germinación con respecto a la fracción por arrastre con vapor ( 50 ml ) de un hidrolizado ácido ( HCl 2.9 N, 3 horas a reflujo ) de un molido de frondas de P. aquilinum. Semillas de lechuga, var. Dark green cos.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE CAMPO EN ALMACIGO

Los muestreos de las plantas de café germinadas bajo una cobertura de frondas de Pteridium aquilinum y las que germinaron bajo una cobertura de hojas de Musa spp fueron hechos el 31 de julio. Las plantas tenían una edad de 4 meses.

Utilizando la prueba no paramétrica de Kruskal - Wallis, (ver apéndice de métodos estadísticos), se contrasta la hipótesis nula de que K muestras aleatorias independientes, de tamaños de muestra  $n_1$  y  $n_2$ , provienen de poblaciones continuas idénticas.

Para dos tipos de cobertura tenemos g.l. = 1, con 14 datos repetidos para  $n_1$  (cobertura de P. aquilinum) y 18 datos repetidos para  $n_2$ .

+ Para las alturas se obtiene  $H = 7.879$ , con  $n = 72$ ; con un valor de H corregido por datos repetidos ( $H'$ ), igual a

$H' = 8.064$  y como el valor crítico de  $X^2_{0.005(1)} = 7.879$ , no puede aceptarse la hipótesis nula ( $p \leq 0.005$ ).

+ Para los grosores existen 26 datos repetidos para  $n_1$  y 28 para  $n_2$ , tal que  $D = 0.8942$  y el valor de  $H = 12.65$ .

El valor corregido por datos repetidos es

$H' = 14.15$  y el valor de  $X^2_{0.005(1)} = 7.879$ , tal que no podemos aceptar la hipótesis nula.

+ Para las mediciones del i.e.r. (altura / grosor), existen 6 datos repetidos para  $n_1$  y 4 para  $n_2$ . El valor  $H = 6.14$  con un valor  $H' = 6.14$ ; como el valor crítico de  $X^2_{0.025}(1) = 5.024$ , tampoco en este caso podemos aceptar la hipótesis nula.

En resumen, para todos los casos no podemos considerar que las alturas, grosores o el i.e.r. provengan de poblaciones idénticas, utilizando el criterio  $H'$  de Kruskal - Wallis. La potencia de la prueba es muy buena, i.e. 99 % (Sokal y Rohlf, 1969).

Para confirmar las conclusiones anteriores y permitirnos hacer un arreglo, se aplica la prueba no paramétrica de "U" de Mann Whitney para el caso  $n_1 > 20$

Para las alturas  $Z = 5.57$ ; como  $t_{0.001}(\infty) = 3.291$ , no podemos aceptar la hipótesis nula con  $\alpha = 0.001$ .

Así,

$$R_{n_1} < R_{n_2}$$

Para los grosores,  $Z = 3.74$  y por lo tanto, no podemos aceptar la hipótesis nula.

Así,

$$R_{n_1} < R_{n_2}$$

Para el i.e.r. tenemos  $Z = 3.06$  y un valor crítico  $t_{0.001(\infty)} = 2.576$ ,

no podemos aceptar la hipótesis nula y por lo tanto:

$$R_{n_1} < R_{n_2}$$

Así, los resultados de la prueba de Kruskal - Wallis son idénticos a la prueba de 'U' de Mann - Whitney, con una probabilidad muy baja de error tipo I, i.e.  $p < 0.01$ , el valor más alto, a dos colas.

Las plantas cultivadas bajo P. aquilinum son menos altas y menos gruesas que las que germinaron bajo una cubierta de Musa spp. Sin embargo, considerando los cocientes i.e.r., las plantas bajo P. aquilinum son menos altas con respecto a su grosor significativamente. Esto podría considerarse como una característica más adecuada con respecto a las cultivadas con una cubierta de Musa spp., ya que podría esperarse una menor pérdida durante la manipulación de las plantas durante su trasplante a los vientos.

Las pérdidas debidas a este trasplante pueden ser de un 20 % (referencia personal, Ing. Licono Franco, Campo Experimental de Garnica, Ver. INMECAFE), pero puede ser reducido a un porcentaje menor con una manipulación cuidadosa.

Una característica importante es la homogeneidad de las plantas. Un lote más homogéneo podría considerarse mejor que uno que esté compuesto por plantas de características más variables. Para tratar de establecer si alguno de los tratamientos anteriores, i.e. cubierta

de P. aquinum o de Musa spp., puede influir en la dispersión de los lotes muestreados, se recurrió a la Prueba de Bartlett para homogeneidad de varianzas.

Para las alturas de los dos tratamientos anteriores

$$X^2 = 0.44$$

Para los grosores

$$X^2 = 2.13$$

Para el i.e.r.

$$X^2 = 0.54$$

Como el valor crítico es de  $X^2_{0.05(1)} = 3.84$

En todos los casos, no puede rechazarse la hipótesis nula de que las poblaciones tengan varianzas idénticas ( $\alpha = 0.05$ ).

Con el criterio de la prueba de Bartlett, la homogeneidad de las muestras es idéntica para los tratamientos con P. aquinum o Musa spp.

## PRUEBAS DE CAMPO EN VIVERO

TABLA DE TERMINOS DE ERROR

(Alturas de la 1a. Medición) - (Promedio general, i. e. 8.22)

Efecto de bloque	BLOQUE				Efecto de tratamiento
	I	II	III	IV	
	(-0.77)	(+0.56)	(+0.44)	(-0.25)	
TRATAMIENTOS					
1	-0.19	0.03	0.02	0.12	(+0.14)
2	-0.50	-0.04	0.12	0.43	(+0.06)
3	0.41	-0.19	-0.01	-0.21	(-0.10)
4	0.00	-0.04	-0.20	-0.25	(-0.08)
5	-0.09	0.13	-0.12	0.07	(+0.26)
6	-0.06	0.07	-0.01	-0.02	(+0.07)
7	-0.16	-0.18	-0.18	0.53	(-0.07)
8	0.54	-0.17	-0.06	-0.30	(-0.30)
9	-0.30	0.20	0.61	-0.53	(-0.02)
10	0.38	0.16	-0.19	-0.34	(+0.05)

$$\text{Como } t_{g1} = \frac{g_1 - 0}{S_{g1}} = \frac{0.47}{0.374} = 1.26$$

Ho: Simétrica

$$t_{g2} = \frac{g_2 - 0}{S_{g2}} = \frac{2.94}{0.733} = 4.01 \quad \text{Hi: Leptocúrtica}$$

$$\text{Ya que: } t_{0.05(40)} = 2.021$$

En la tabla de términos de error de Bloques por tratamientos, para las alturas de la primera medición, se efectuó una prueba de Bondad de ajuste a una distribución normal por estadística de momentos, encontrándose que la distribución de los datos no difiere de una distribución normal en lo referente a simetría ( $g_1 = 0.47, \alpha = 0.05$ ), pero es más extendida que la normal ( $g_2 = 4.01, \alpha = 0.05$ ).

Como el valor del coeficiente de variación es pequeño (c.v. = 1.8 %), se considera que esta desviación de la normalidad no afectará apreciablemente los resultados del ANOVA, especialmente si se trata de una distribución simétrica.

Para tratar de corregir a esta desviación, se transforma a los datos de la tabla de términos del error por medio de la Transformación

Arco Seno  $\sqrt{\frac{\sum X_{ij}}{10}}$ , recomendada para este tipo de desviaciones

(Sokal, 1969). Sin embargo, esta transformación no fue de mayor utilidad, ya que la corrección fue casi despreciable ( $t_{g1} = 1.15$ ,  $t_{g2} = 4.00$

y  $t_{0.005(40)} = 2.01$ ).

Por lo anterior, se opta por utilizar a los datos sin transformar.

Esto tendrá la ventaja de que los intervalos de confianza sean simétricos alrededor de las medias.

Para probar la hipótesis nula de la distribución aleatoria e independiente de los términos del error se recurre a una tabla de contingencia 2 x 4.

Como la tabla de términos de error sugiere una distribución asimétrica de los términos de error para los tratamientos con deshierbe y sin deshierbe, i.e. tratamientos del 1 al 5 y del 6 al 10, respectivamente, podemos plantear la siguiente tabla de contingencia, donde se señala la frecuencia de datos abajo de la media estandarizada igual a cero:

	k	I	II	III	IV	Total
n						
con D		3	3	3	2	11
sin D		3	2	4	4	13
TOTAL						= 24

$$\text{Donde } \chi^2 = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^k \frac{(x_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}} = 0.85, \text{ g.l.} = (n-1)(k-1) = 3$$

En la expresión anterior,  $E_{ij}$  = valor esperado de  $x_{ij}$  en caso de no existir aleatoriedad o independencia.

Como  $\chi^2_{0.05(3)} = 7.85$ , no puede rechazarse la Hipótesis Nula, por lo tanto, no puede decirse que los términos del error no estén aleatoria e independientemente distribuidos.

## CRITERIO DE ADITIVIDAD

PRUEBA DE TUKEY

Tabla de Totales de Tratamiento y Comparaciones

COMPARACION	TESTIGO	EXPERIMENTAL	TOTAL	$\bar{x}_{comp.}$	$\bar{x}_{comp.} - \bar{x} = C_i$
a.- 2 Vs. 3	33.13	32.48	65.61	8.20	- 0.02
b.- 7 Vs. 8	32.61	31.69	64.30	8.04	- 0.18
c.- 1 al 5 Vs. 6 al 10	33.10	32.66	65.76	8.22	0.0
d.- 1 Vs. 2	33.42	33.13	66.55	8.32	0.10
e.- 6 Vs. 7	33.14	32.61	65.75	8.22	0.0
f.- 2 Vs. 4	33.13	32.57	65.70	8.21	- 0.01
g.- 7 Vs.	32.61	32.78	65.39	8.17	- 0.05
h.- 2 Vs. 5	33.13	33.91	67.04	8.38	0.16
i.- 7 Vs. 10	32.61	33.09	65.70	8.21	- 0.01

TOTAL = 296.88      294.92      591.80      - 0.010

$\bar{X}_v$  TOTAL/36 = 8.25      8.19       $\bar{X} = 8.22$

$\bar{X}_v - \bar{X} = V_j = 0.03$       - 0.03      0.0

$$Q_i = - 0.178 \quad - 0.089 \quad (Q_i = \sum^b (\sum^n Y_{ij}) C_i)$$

$$Q = - 0.008 \quad (Q \equiv \sum^a Q_i V_j)$$

$$K = 1.28 \times 10^{-4} \quad (K \equiv (\sum^a V_j^2) (\sum^b C_i^2))$$

La suma de cuadrados para la no aditividad,  $SC_{no\ ad.}$ , esta dada por:

$$SC_{no\ ad.} \equiv \frac{Q^2}{K n} = \frac{(-0.008)^2}{(1.28 \times 10^{-4})^4} = 0.125 = F_{obs.}$$

La suma de cuadrados para la no aditividad ( $SC_{no\ ad.}$ ) es un componente de la suma de cuadrados calculada en el ANOVA, con un grado de libertad.

El valor encontrado para  $SC_{no\ ad.} = 0.125$  y el valor  $F$  requerido es igual a:

$$F_{0.05(1)} = 161$$

De esta forma, no puede aceptarse la hipótesis nula, y por lo tanto, no puede decirse que no exista aditividad de efectos principales ( $2 \alpha = 0.05$ )

Se concluye que los datos experimentales satisfacen a los requerimientos del ANOVA. La posible influencia de la distribución leptocúrtica de los datos y de los componentes del error de los mismos, a pesar de no ser de mucha importancia para la aplicabilidad del ANOVA (Little, T. 1978), junto con la poca variabilidad del material experimental (c.v. = 1.8 %), puede hacer que esta desviación de la normalidad no afecte a los resultados del ANOVA.

## PRIMERA MEDICION

Los resultados para esta, se obtuvieron de mediciones en plantas con una edad de 4.5 meses.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F requerido	
					5 %	1 %
TOTAL	39	15.15				
BLOQUES	3	11.53	3.84	37.1 <sup>ooo</sup>	2.96	3.45
TRATAMIENTOS	9	0.82	0.09	0.88	2.25	3.45
ERROR	27	2.80	0.10			

La Media principal,  $\bar{x}$ , = 8.22 cm, con  $s_x = 0.15$  y c.v. = 1.82 %

Prueba de Bartlett  $X^2 = 4.45$  con g.l. = 9 ( $X^2_{0.05}(9) = 16.92$ );

$\bar{x} = f(s)$  con  $R = 0.19$

o = significativo al 5 %; oo = significativo al 1 %;

ooo = significativo al 0.5 %.

## ANALISIS FUNCIONAL DE VARIANZA (A.F.V.)

La separación de medias se hará por partición ortogonal de la suma de cuadrados de los tratamientos, en comparaciones de clase para pruebas F planeadas.

TABLA A.F.V.	Medición : ALTURAS			1a. Medición		
Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	5 %	1 %
TRATAMIENTOS	9	0.98	0.11	1.56	2.25	3.45
COMPARACIONES						
a	1	0.053		0.53	4.21	7.68
b	1	0.106		1.06		
c	1	0.121		1.21		
d	1	0.011		0.11		
e	1	0.035		0.35		
f	1	0.039		0.39		
g	1	0.004		0.04		
h	1	0.076		0.76		
i	1	0.029		0.29		
ERROR	27	2.79	0.10			

o = significativo al 5.0 %  
 oo = significativo al 1.0 %  
 ooo = significativo al 0.5 %

Los datos que aparecen en el cuadro de Bloques por Tratamientos, son los rangos que ocupa cada promedio con respecto a su propio bloque.

El valor  $X^2$  observado no excede al valor crítico, por lo que se concluye que la hipótesis nula no puede ser rechazada, o sea, que no hay diferencias entre tratamientos.

Como puede observarse, las conclusiones del ANOVA no difieren de los de la prueba no paramétrica equivalente, por lo que probablemente el problema de leptocurtosis de los datos pueda ser ignorado, especialmente si este último no es corregido apreciablemente por la transformación Arco Seno.

SEPARACION DE MEDIAS POR ANALISIS FUNCIONAL DE  
VARIANZA

TABLA A.F.V.

Medición: GROSORES

1a. Medición

Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F.obs.	F <sup>o</sup> requerido	
					5 %	10 %
TRATAMIENTOS	9	0.01	0.001	0.40	2.25	
COMPARACIONES						
d	1	0.003		0.75	4.21	2.9
e	1	0.002		0.50		
h	1	0.004		1.00		
j.-T-5 Vs. T-1	1	0.013		3.25 °		
ERROR	27	0.10	0.004			

° = significativo al 10 %.

Como en el caso de los datos del índice de elongación relativa, i.e.r., se trata de un cociente altura en grosor, es necesario probar la aleatoriedad, independencia y normalidad de la distribución de los términos de error. Para esto, se construye una tabla de Tratamientos por Bloques donde se haya estandarizado el promedio general a cero y eliminado los efectos de bloque y de tratamientos.

TABLA DE TERMINOS DE ERROR

Medición : I. E. R.

1a. Medición

	<u>BLOQUE</u>				Efecto de Tratamiento
	I	II	III	IV	
Efecto de Bloque	(-0.25)	(+0.41)	(+0.15)	(-0.33)	
TRATAMIENTO					
1	0.03	0.01	-0.05	0.02	+ 0.06
2	-0.17	-0.12	-0.02	0.31	+ 0.07
3	0.14	0.15	-0.01	-0.27	+ 0.04
4	-0.07	0.01	-0.11	0.19	- 0.06
5	-0.13	0.17	-0.13	0.10	+ 0.19
6	0.11	0.02	-0.14	0.01	- 0.02
7	-0.01	0.10	0.12	0.18	- 0.12
8	0.25	-0.24	-0.07	0.06	- 0.16
9	- 0.13	- 0.05	0.44	- 0.23	- 0.03
10	0.05	0.05	0.01	0.02	- 0.01

$g_1 = 0.59$  y  $t_{g1} = 1.578$  tal que  $H_0$ : simétrica

$g_2 = 3.58$  y  $t_{g2} = 4.884$  tal que  $H_1$ : leptocurtica,

ya que  $t_{0.05(40)} = 2.021$ .

Con los datos de los tratamientos 1 al 5, con deshierbe y los del 6 al 10, sin deshierbe, se construye la siguiente tabla de contingencia, donde se indica la frecuencia de datos que son inferiores a la media estandarizada cero:

n	K	I	II	III	IV	Total
con D		3	1	5	1	10
sín D		2	3	2	2	9
TOTAL =						19

Donde la  $X^2 = 2.77$  y dado que  $X^2_{0.05 (3)} = 7.85$ ,

no puede rechazarse la hipótesis nula

Por lo tanto, no puede decirse que los términos del error no estén aleatoria e independientemente distribuidos.

Los resultados de la prueba de bondad de ajuste a una distribución normal indican que la distribución de los términos del error, están simétricamente distribuidos y que se trata de una distribución leptocúrtica.

La distribución del cociente i.e.r. es similar a la de las mediciones directas, altura y grosor, por lo que se considera que el ANOVA podrá ser empleado también en este caso.

TABLA ANOVA

Medición: I.E.R.

1a. Medición

Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F requerido	
					5 %	1 %
TOTAL	39	4.80				
BLOQUES	3	3.57	1.19	36.74 <sup>ooo</sup>	2.96	4.6
TRATAMIENTOS	9	0.36	0.04	1.23	2.25	3.45
ERROR	27	0.87	0.032			

<sup>ooo</sup> = significativo al 0.05 %; Media Principal,  $\bar{\bar{x}}$ , = 4.04 con  $s = 0.10$ ;  
 c.v. = 2.48 %;  $X^2$  de Bartlett = 4.19, con g.l. = 9 ( $X^2_{0.05(9)} = 16.92$ );  
 $x = -0.37 + 0.13 s^2$  con  $R = 0.02$

## ANALISIS FUNCIONAL DE VARIANZA ( A.F. V. )

TABLA A.F.V.

Medición : I.E.R.

1a. Medición

Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs	F requerido	
					5 %	1 %
TRATAMIENTOS	9	0.36	0.04	1.23	2.25	
COMPARACIONES						
a	1	0.002		0.06	4.21	2.9
b	1	0.005		0.16		
c	1	0.160		5.00 °		
d	1	0.0				
e	1	0.017		0.53		
f	1	0.031		0.97		
g	1	0.016		0.50		
h	1	0.030		0.94		
i	1	0.023		0.72		
j.- T-8 Vs. T-5	1	0.249		7.78 °		
ERROR	27	0.87	0.032			

° = significativo al 5 %.

SEGUNDA MEDICION

Los resultados para ésta, se obtuvieron de mediciones en plantas con una edad de 6.0 meses.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

TABLA ANOVA	Medición:	ALTURAS		2a. Medición		
		g.l.	S.C.	C.M.	F obs	F requerido
Fuente de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs	5 %	1 %
TOTAL		12.63				
BLOQUES	3	7.79	2.6	25.62 <sup>ooo</sup>	2.96	4.60
TRATAMIENTOS	9	2.10	0.23	2.30 <sup>o</sup>	2.25	3.45
ERROR	27	2.74	0.10			

<sup>ooo</sup> = significativo al 0.5 % ; <sup>o</sup> = significativo al 5 %;

La media principal,  $\bar{\bar{x}}$ , = 8.44, con  $\Delta_{\bar{x}} = 0.24$  y c.v. = 2.84 %;

La  $X^2$  de Bartlett = 5.55, con g.l. = 9 ( $X^2_{0.05(9)} = 16.92$ ) ;

$\bar{x} = -0.57 + 0.11 s^2$ , con R = 0.01

Ho no puede ser aceptada, para los tratamientos.

ANALISIS FUNCIONAL DE VARIANZA (A.F. V.)

TABLA A.F.V.

Medición: ALTURAS

2a. Medición

Fuente de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F requerido	
					5 %	1 %
TRATAMIENTOS	9	2.10	0.0233	2.30 °	2.25	3.45
COMPARACIONES						
a	1	0.21		2.1	4.21	7.68
b	1	0.47		4.7 °		
c	1	0.915		9.15 °°		
d	1	0.002		0.02		
e	1	0.08		0.8		
f	1	0.332		3.32		
g	1	0.003		0.03		
h	1	0.0		0.0		
i	1	0.004		0.04		
j.- T-6 Vs. T-8	1	0.520		5.20 °		
ERROR	27	2.74	0.10			

° = significativo al 5 %; °° = significativo al 1 % ;

SEPARACION DE MEDIAS POR DIFERENCIA SIGNIFICATIVA MINIMA

( DSM )

El valor de la D. S. M. esta definida por :

$$D.S.M. = t_{\alpha} \sqrt{\frac{2 s^2}{r}} = t_{0.05} \sqrt{\frac{2 \text{ C M E}}{4}} = 2.052 \sqrt{\frac{2 (0.10)}{4}} = 0.46$$

Así, la  $DSM_{0.05} = 0.46$  , para las alturas de la 2a. Medición.

ARREGLO DE MEDIAS POR TRATAMIENTO

T	$\bar{X}_t$	
8	8.00	
9	8.27	
7	8.31	Comparados con el tratamiento tradicional (2 ), i.e. cobertura de <u>P. aquilinum</u> , con deshierbe difieren significativamente los tratamientos:
4	8.34	
10	8.35	
3	8.42	
6	8.53	
1	8.71	8.- Testigo, Musa, sin deshierbe , y
2	8.74	9.- Gálico, Musa, sin deshierbe.
5	8.75	Su altura es menor ( $p < 0.05$ )

Para la discusión de esta prueba refierase al apéndice de Métodos estadísticos.

Método de Friedman para Bloques completos al Azar

Medición : ALTURAS

2a. Medición

TRATA- MIENTO	BLOQUE				R <sub>ij</sub>
	I	II	III	IV	
1	7	7	10	7	31
2	6	9	9	9	33
3	10	5	1	3	19
4	4	3	5	4	16
5	9	8	7	10	34
6	3	10	6	6	25
7	5	2	4	8	19
8	2	1	2	1	6
9	1	6	8	2	17
10	8	4	3	5	20

a = 10 grupos

$$\frac{b}{12} \left( \sum \sum R_{ij} \right)^2 = 5534.00$$

b = 4 bloques

$$X^2 = \left[ \frac{12}{a b (a + 1)} \sum \left( \sum R_{ij} \right)^2 \right] - 3 b (a + 1) =$$

$$X_{obs.}^2 = 18.927$$

$$\text{Como } X_{0.05(9)}^2 = 16.919$$

No puede aceptarse la hipótesis nula.

TABLA ANOVA

Medición: GROSORES

2a. Medición

Fuente de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F requerido	
					5 %	1 %
TOTAL		0.31				
BLOQUES	3	0.15	0.05	10.87 <sup>oo</sup>	2.96	4.60
TRATAMIENTOS	9	0.04	0.004	0.96	2.25	3.45
ERROR	27	0.12	0.004			

<sup>oo</sup> = significativo al 1 %;

La media principal,  $\bar{x}$ , = 2.25 con  $s_{\bar{x}} = 0.034$  y c.v. = 1.5 %;

La  $X^2$  de Bartlett = 2.16, g.l. = 9 ( $X^2_{0.05}(9) = 16.92$ );

$\bar{x} = -0.09 + 0.04 s^2$  con  $R = 0.13$

ANALISIS FUNCIONAL DE VARIANZA (A.V.F.)

TABLA A.V.F. Medición: GROSORES 2a. Medición

Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F requerido	
					5 %	10 %
TRATAMIENTOS	9	0.04	0.004	0.96	2.25	
COMPARACIONES						
a	1	0.010		2.5	4.21	2.9
b	1	0.007		1.75		
c	1	0.0		0.0		
d	1	0.011		2.75		
e	1	0.0		0.0		
f	1	0.0		0.0		
g	1	0.004		1.0		
h	1	0.002		0.5		
i	1	0.002		0.5		
j.-T-8 Vs. T-9	1	0.020		5.00°		
ERROR	27	0.12	0.004			

° = significativo al 5 %.

TABLA ANOVA

Medición: I. E. R.

2a. Medición

Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F requerido	
					5 %	1 %
TOTAL		2.09				
BLOQUES	3	0.76	0.25	6.98 <sup>oo</sup>	2.96	4.60
TRATAMIENTOS	9	0.35	0.04	1.05	2.25	3.45
ERROR	27	0.98	0.04			

<sup>oo</sup> = significativo al 1 % ;

La media principal,  $\bar{x} = 3.78$  con  $s_{\bar{x}} = 0.10$  y c.v. = 2.65 % ;  
 la  $\chi^2$  de Bartlett = 11.71 , con g.l. = 9 (  $\chi^2_{0.05(9)} = 16.92$  ) ;  
 $\bar{x} = 0.19 - 0.04 s^2$  con R = 0.002

ANALISIS FUNCIONAL DE VARIANZA ( A.F. V.)

Fuente de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F requerido	
					5 %	10 %
TABLA A.F.V.						
Medición:			I.E.R.			
2a. Medición						
TRATAMIENTOS	9	0.35	0.04	1.05	2.25	
COMPARACIONES						
a	1	0.18		4.5 °	4.21	2.9
b	1	0.011		0.28		
c	1	0.065		1.62		
d	1	0.030		0.75		
e	1	0.004		0.10		
f	1	0.106		2.65		
g	1	0.006		0.15		
h	1	0.006		0.15		
i	1	0.0				
j.- T-2 Vs. T-3	1	0.18		4.50 °		
ERROR	27	0.98	0.04			

° significativo al 5 %.

Porcentaje de Infección por Hongos ( % H )

Los datos han sido transformados por la siguiente expresión:

$$X_{ij} = \text{Arco Seno } \sqrt{\left(\frac{\% H}{10}\right)}$$

TABLA ANOVA

Medición: % H

2a. Medición

Fuente de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	$\frac{F \text{ requerido}}{5 \%}$
TOTAL		9 942.74	412.49		
BLOQUES	3	1 237.46	412.49	2.13	2.96
TRATAMIENTOS	9	3 476.55	386.28	1.99	2.25
ERROR	27	5 228.73	193.66		

La media principal,  $\bar{x} = 32.68$ , equivalente a 29.15 % de infección por cada u.e., 5 plantas por u.e.,  $X^2$  de Bartlett = 7.17 ( $X^2_{0.05(9)} = 16.92$ ).

$\bar{x} = 425.64 - 5.79 s^2$  con  $R = 0.16$ .

No puede rechazarse la hipótesis nula. No existe diferencia de infección por efecto de Bloque o de Tratamientos.

TERCERA MEDICION

Los resultados para esta, se obtuvieron de mediciones en plantas con una edad de 7.0 meses.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Fuente de varicación	Medición: ALTURAS			3a. Medición		
	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F requerido 5 %	1 %
TOTAL		50.97				
BLOQUES	3	29.80	9.93	13.8 <sup>oo</sup>	2.96	4.60
TRATAMIENTOS	9	1.75	0.19	0.27	2.25	3.45
ERROR	27	19.43	0.72			

<sup>oo</sup> = significativo al 1 %

La media principal,  $\bar{x} = 10.58$  con  $s_x = 0.21$  y c.v. = 1.98 %;

La  $X^2$  de Bartlett = 7.5 ( $X^2_{0.05 (9)} = 16.92$ );

$\bar{X} = 15.80 - 1.34 s^2$  con  $R = 0.04$

No se observan Pruebas F planeadas que sean significativas en el Análisis Funcional de Varianza.

TABLA ANOVA

Medición : GROSORES

3a Medición

Fuente de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F requerido	
					5 %	1 %
TOTAL		1.32				
BLOQUES	3	0.86	0.29	24.34 <sup>oo</sup>	2.96	4.60
TRATAMIENTOS	9	0.13	0.01	1.24	2.25	3.45
ERROR	27	0.32	0.01			

<sup>oo</sup> = significativo al 1 %;

La media principal,  $\bar{\bar{x}} = 2.3$  con una  $s_{\bar{\bar{x}}} = 0.06$  y c.v. = 2.74 % ;

El valor de  $X^2$  de Bartlett = 2.96 (  $X^2_{0.05(9)} = 16.92$  ) ;

$\bar{\bar{x}} = 0.25 - 0.09 s^2$  con  $R = 0.12$

TABLA A.F.V. Medición : GROSORES 3a. Medición

Fuente de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F requerido	
					5 %	10 %
TRATAMIENTOS	9	0.13	0.01	1.24	2.25	
COMPARACIONES						
a	1	0.041		4.10 <sup>°</sup>	4.21	2.90
b	1	0.02		2.0		
c	1	0.034		3.40 <sup>°</sup>		
d	1	0.041		4.10 <sup>°</sup>		
f	1	0.001		0.10		
g	1	0.02		2.00		
h	1	0.02		2.00		
j.- T-2 Vs. T-9	1	0.082		8.20 <sup>°°</sup>		
ERROR	27	0.32	0.01			

<sup>°</sup> = significativo al 10 % ;

<sup>°°</sup> = significativo al 5 %

TABLA ANOVA

Medición : I.E. R.

3a. medición

Fuente de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F requerido	
					5 %	1 %
TOTAL		7.96				
BLOQUES	3	4.44	1.48	15.66 <sup>∞</sup>	2.96	4.50
TRATAMIENTOS	9	0.97	0.11	1.15	2.25	3.45
ERROR	27	2.55	0.09			

<sup>∞</sup> = significativo al 1 %;

La media principal,  $\bar{x} = 4.66$  con una  $s_x = 0.17$  y c.v. = 3.65 ;

$X^2$  de Bartlett = 6.22 (  $X^2_{0.05(9)} = 16.92$  ) ,  
 $\bar{X} = 1.83 - 0.35 s^2$  con  $R = 0.18$

ANALISIS FUNCIONAL DE VARIANZA (A.F.V.)

Fuente de variación	g. l.	S. C.	C. M.	F obs	F requerido	
					5 %	10 %
TRATAMIENTOS	9	0.97	0.11	1.15	2.25	
COMPRACIONES						
a	1	0.09		1.00	4.21	2.9
b	1	0.06		0.67		
c	1	0.29		3.22°		
d	1	0.05		0.56		
e	1	0.01		0.11		
f	1	0.001		0.01		
g	1	0.324		3.60°		
h	1	0.008		0.09		
i	1	0.044		0.49		
ERROR	27	2.55	0.99			

° = significativos al 10 %

Porcentaje de Infección por Hongos ( % H )

En este caso se considera el porcentaje de plantas que no ha sido infectado.

Los datos han sido transformados por la siguiente expresión:

$$X_{ij} = \text{Arco Seno} \sqrt{\left( \frac{\% \text{ sin H}}{10} \right)}$$

TABLA ANOVA

Medición: % sin H

3a. medición

Fuente de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F requerido 5 %
TOTAL		12,892.76			
BLOQUE	3	6 637.12		16.43 <sup>∞</sup>	2.96
TRATAMIENTO	9	2 621.01		2.16	2.25
ERROR	27	3 634.63			

<sup>∞</sup> = significativo al 5 % ;

La media principal,  $\bar{x} = 46.65$ , equivalente a 52.68 % de plantas sin hongos.

CUARTA MEDICION

Los resultados para esta se obtuvieron de mediciones en plantas con una edad de 9.0 meses.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

TABLA ANOVA                      Medición: ALTURAS                      4a. Medición

Fuente de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs	F requerido 5 %
TOTAL		135.32			
BLOQUES	3	74.15	24.72	11.64 <sup>oo</sup>	2.96
TRATAMIENTOS	9	3.85	0.43	0.20	2.25
ERROR	27	57.32	2.12		

<sup>oo</sup> = significativo al 1 %;

Media principal,  $\bar{\bar{x}} = 12.83$  cm con  $s_{\bar{x}} = 0.33$  y c.v. = 2.56 % ;

$X^2$  de Bartlett = 7.37 (  $X^2_{0.05(9)} = 16.92$  ) ;

$\bar{X} = -8.41 + s^2$  con  $R = 0.01$

ANALISIS FUNCIONAL DE VARIANZA ( A.F.V. )

TABLA A.F.V.

Medición : ALTURAS

4a. Medición

Fuente de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F requerido	
					5 %	10 %
TRATAMIENTOS	9	3.85	0.43	0.20	2.25	
COMPARACIONES						
a	1	0.154		0.07	4.21	2.9
b	1	0.708		0.33		
c	1	0.018		0.01		
d	1	0.557		0.26		
e	1	0.015		0.01		
f	1	0.485		0.23		
g	1	0.053		0.03		
h	1	0.572		0.27		
i	1	0.192		0.09		
ERROR	27	57.32	2.12			

TABLA ANOVA.

Medición: GROSORES

4a. Medición

Fuente de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	$\frac{F \text{ requerido}}{5 \%}$
TOTAL		2.24			
BLOQUES	3	1,51	0.503	21.14 <sup>∞</sup>	2.96
TRATAMIENTOS	9	0.08	0.009	0.38	2.25
ERROR	27	0.64	0.024		

<sup>∞</sup> = significativo al 1 %

Media Principal,  $\bar{\bar{x}} = 10.32$  con  $s_x^2 = 0.191$  y c.v. = 1.85 %

$X^2$  de Bartlett = 3.90 ( $X_{0.05}^2(9) = 16.92$ )

$\bar{X} = - 2.5 + s^2$  con R = 0.55

No se observan Pruebas F Planeadas que sean significativas en el análisis funcional de varianza.

TABLA ANOVA

Medición : I. E. R.

4a. Medición

Fuente de variación	g. l.	S. C.	C. M.	F obs	F requerido 5 %
TOTAL		9.57			
BLOQUES	3	5.00	1.667	10.84 °°	2.96
TRATAMIENTOS	9	0.41	0.046	0.30	2.25
ERROR	27	4.15	0.154		

°° = significativo al 1 %

Media principal,  $\bar{\bar{X}} = 19.87$  con  $s_{\bar{X}} = 0.428$  y c.v. = 2.15 % ; $\bar{X} = 4.68 - 0.88 s^2$  con  $R = 0.15$  ;  $X^2_{Bartlett} = 8.73 (X^2_{0.05(9)} = 16.92)$ 

No se observan Pruebas F Planeadas que sean significativas  
en el Análisis Funcional de Varianza.

## RESUMEN DE RESULTADOS DEL ANALISIS ESTADISTICO

MEDICIONES EN VIVEROS

	<u>ALTURAS</u>	<u>GROSORES</u>	<u>I.E.R.</u>
1a. (4 meses)	ANOVA n.s. F planeadas n.s.	ANOVA n.s. F planeadas T-5 Vs. T-1 significativo al 10 %	ANOVA n.s. F planeadas comparación 'c' y T-5 Vs. T-8 significativos al 5 %
2a. (6 meses)	ANOVA significativo DSM <u>8,9</u> <u>1,3,4,6,7</u> , <u>2,5</u> F planeadas comparaciones 'b' y 'c' T-6 Vs. T-8 significativos al 5 % ( 'c' al 1 % ) Freedman significativo	ANOVA n.s.  F planeadas T-8 Vs. T-9 significativo al 5 %	ANOVA n.s.  F planeadas comparación 'a' y T-2 Vs. T03, significativos al 5 %
3a. (7 meses)	ANOVA n.s. F planeadas n.s.	ANOVA n.s. F planeadas comparaciones 'a' , 'c' y 'd' significativas al 10 % , T-9 Vs. T-2 significativo al 5 %	ANOVA n.s. F planeadas comparaciones 'c' y 'g' significativas al 10 %
4a. (9 meses)	----- No hay contrastaciones significativas -----		

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los resultados de la caracterización química tentativa del contenido de las fracciones activas separadas de P. aquilinum sugieren la naturaleza fenólica de algunos componentes de la mezcla.

Este tipo de fitotoxinas puede estar implicado en fenómenos alelopáticos (del Moral y Muller, 1969, ; Muller, et. al. 1968 y 1969.). Ver sección de compuestos fenólicos de este trabajo.

Las bandas de absorbancia características de estos compuestos coinciden con la inhibición de la germinación de semillas. Esta actividad ha sido ampliamente estudiada (Abdul - Wahab y Rice, 1967.; McPherson, 1971.) y pueden ser responsables de la inhibición del crecimiento (Dawes y Maravolo, 1973).

Aparentemente, la banda a 275 nm es originada por un tipo de compuesto activo sobre la germinación. La concentración más alta se obtiene por la hidrólisis ácida de las frondas, como es detectado en las primeras fracciones obtenidas por arrastre con vapor.

Los efectos de inhibición detectados en las fracciones obtenidas de P. aquilinum no están dados por efectos osmóticos.

Los efectos de inhibición de la germinación se presentan para semillas de lechuga var. Dark green cos y para Lipidium sativum.

Sobre las semillas de avena, var. Nodeway, se observa un efecto de inhibición del crecimiento del hipocótilo, por el extracto crudo de P. aquilinum. Para semillas de lechuga se observa la inhibición del creci-

miento por algunas fracciones obtenidas por arrastre con vapor.

Los compuestos responsables de la inhibición de la germinación de semillas de lechuga son rápida y completamente extraídos por agua de las frondas de P. aquilinum, lo que sugiere la naturaleza polar de estos componentes, que son fácilmente difusibles, lo que sugiere un peso molecular bajo.

Los experimentos de campo en almácigos muestran la actividad de los compuestos sobre el crecimiento de las plantas de café. Las plantas en contacto con ellos son más pequeñas (altura y grosor), con respecto a las que se encuentran bajo una cobertura de Musa spp. ( $p < 0.005$ ).

A juzgar por los valores i.e.r., las plantas son menos altas que gruesas con respecto al mismo cociente en plantas bajo una cubierta de Musa spp. ( $p < 0.025$ ).

Al inicio del experimento en viveros, para la primera medición, 15 días después del trasplante, no se encontraron efectos para las alturas. Para los grosores se detecta una diferencia significativa al 10 % entre el tratamiento 5 y el 1 (ver pág. 115), i.e. :

Cobertura de Musa spp., con deshierbe, ácido gálico Vs.

Cobertura de Musa spp., con deshierbe, Fracción A, respectivamente, Las plantas tratadas con la Fracción A son mayores que las tratadas con ácido gálico.

Para los cocientes i.e.r., la comparación 'c' es significativa al 10 %

(ver pag. 119 ), i.e. existen efectos por deshierbe.

Con deshierbe el cociente i.e.r. es mayor.

Para este cociente, también existe una diferencia entre el tratamiento 5, que es mayor, que el tratamiento 8 (  $p \leq 0.10$  , ver pag. 119 ). El tratamiento 5 tenía una cobertura de Musa spp., sin deshierbe, gálico y el tratamiento 8, tenía una cobertura de Musa spp., sin deshierbe, como testigo. Como la comparación 'c' es significativa, o sea que existen efectos por deshierbe, esta última comparación no es concluyente.

Además, por la tabla de contingencia planteada (alturas, 1a. Medición) para los tratamientos del 1 al 5 con respecto a los tratamientos del 6 al 10, no puede decirse que al inicio del experimento haya habido una contribución del error para las comparaciones con deshierbe y sin éste.

Cuando las plantas de café tienen una edad de 6 meses, i.e. 2 meses después del trasplante, se observa un efecto significativo de los tratamientos sobre las alturas de las plantas (ANOVA,  $p < 0.05$  ).

Por diferencia significativa mínima, se obtiene la siguiente agrupación de medias de tratamientos:

menor ————— mayor

8 9 7 4 10 3 6 1 2 5

Comparados con el tratamiento tradicional, 2, i.e. cobertura de P. aquilinum, con deshierbe, difieren significativamente los trata-

mientos 8 y 9 (significativo al 5 %), pero dado que la comparación 'c' es significativa (por análisis funcional de varianza) y a que la separación en el arreglo excede a lo recomendado, esta diferencia no es conclusiva y se procede al análisis funcional de varianza.

Las siguientes son significativas por A.F.V.:

Comparación b.- Existe una diferencia entre coberturas con p. aquilinum y Musa spp., sólo en ausencia de deshierbe ( $p < 0.05$ ).

El tratamiento 7 es mayor que el tratamiento 8, i.e. los testigos con cubierta de p. aquilinum son más altos que los testigos con Musa spp., sólo en ausencia de deshierbe, ya que si los tratamientos anteriores son sometidos a deshierbe, no puede detectarse diferencia alguna.

Comparación c.- Hay una muy significativa influencia del deshierbe sobre todos los tratamientos ( $p < 0.01$ ); los lotes sin deshierbe son de una altura menor que los lotes con deshierbe.

Esta conclusión limita a las comparaciones que pueden hacerse, ya que no podrán compararse lotes con deshierbe y sin él, para contrastar otras combinaciones de efectos de tratamiento.

Comparación j.- El tratamiento con la Fracción A extraída de p. aquilinum, se comporta como una cobertura de este mismo helecho, en ausencia de deshierbe. Las plantas tratadas son más altas que los controles con cubierta de Musa spp. ( $p < 0.05$ )

La leptocurtosis de los datos aparentemente no tienen una contribución significativa, ya que por un método no paramétrico de comparación simultánea con dos criterios de clasificación, equivalente al ANOVA, i.e. Método para Bloques Completos al Azar de Friedman, se obtienen, también, resultados significativos ( $X^2$  de Friedman = 18.92 y  $X^2_{0.05(9)} = 16.91$ ) para el efecto de tratamientos.

Para los grosores solamente se observa, por A.F. V., una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el tratamiento 8 y el 9 (ver pág. 125), i.e.:

Cobertura Musa spp., sin deshierbe, Testigo Vs.

Cobertura Musa spp., sin deshierbe, Quinona, respectivamente.

Los grosores de las plantas tratadas con quinona son mayores que los testigos con cobertura de Musa spp.

Finalmente, para el i.e.r. la comparación 'j' es significativa ( $p < 0.05$ ), existiendo una diferencia entre la cobertura con P. aquilinum y una de Musa spp. Los tratamientos comparados fueron el 2 Vs. 3, i.e. cobertura de p. aquilinum, con deshierbe, testigo Vs. cobertura Musa spp., con deshierbe, testigo.

El tratamiento 2 es menor que el tratamiento 3, el cociente i.e.r. es mayor para las plantas con cobertura de Musa spp. que las que tuvieron una cobertura de p. aquilinum.

En esta medición se observa una incidencia (29.5 % de infección) de hongos, pero no existe un efecto de tratamientos o de bloques para la incidencia de ésta, ya que no existe una diferencia significativa por Análisis de Varianza.

Cuando las plantas tiene una edad de 7 meses, el porcentaje de plantas que presentaban signos de haber sido atacadas por hongos era de 47.32 %, sin efectos significativos por tratamientos, (ver pág. 134 ). A pesar de que no se observan efectos por tratamientos, los resultados de los análisis estadísticos posteriores a esta fecha se deben considerar con gran reserva, ya que la respuesta fisiológica de las plantas puede ser alterada.

A los siete meses de edad, el ANOVA para las alturas, grosores y el i.e.r. de la tercera medición, no fue significativo para los tratamientos. Por A.F.V. no fueron detectadas diferencias significativas para las alturas. Sin embargo, para Grososres el A.F.V. mostró a las siguientes comparaciones como significativas,  $p < 0.10$ , (ver pág.131);

Comparación a.- Hay diferencia entre coberturas con P. aquilinum y Musa spp. con deshierbe, i.e. tratamiento 2 Vs. 3, las plantas bajo P. aquilinum son menos gruesas que las que se cubrieron con Musa spp.

Comparación c .- Existen diferencias por deshierbe.

Comparación d .- Las plantas tratadas con la fracción A son menos

gruesas que las tratadas con una cobertura de P. aquilinum, en las unidades experimentales donde se practicó el deshierbe.

Comparación entre el tratamiento 2 y 9, ( $p < 0.05$ ),

i.e. cobertura de P. aquilinum, con deshierbe, testigo Vs.  
cobertura de Musa spp., sin deshierbe, Quinona respectivamente.

El tratamiento 2 es menor que el tratamiento 9. Sin embargo, debe considerarse que existen efectos por deshierbe (comparación 'c').

Para el i.e.r. de la tercera medición se observa, por A.F.V., que existen efectos por deshierbe (comparación 'c';  $p < 0.10$ ) y por la comparación 'g', el tratamiento con quinona puede ser considerado diferente al de una cobertura con P. aquilinum, sólo si no se practica deshierbe, i.e. tratamiento 7 Vs. 9 ;

cobertura de P. aquilinum, con deshierbe, testigo, Vs.

cobertura Musa spp., con deshierbe, Quinona, respectivamente.

El i.e.r. para plantas bajo P. aquilinum es menor que para las que se encontraron bajo Musa spp.

Durante la cuarta medición, cuando las plantas tienen 9 meses de edad, el ANOVA y el A.F.V. no muestran contrastaciones significativas.

## RESUMEN

El helecho Pteridium aquilinum es usado como cobertura en almácigos y viveros para el cultivo del café. Este helecho cosmopolita, reconocido como una maleza, es utilizado en sus prácticas de cultivo de una forma sistemática. El contacto, entendido éste como la utilización en las coberturas de frondas de P. aquilinum sobre las semillas y plantas de café, es iniciado desde antes de la germinación de las semillas de café hasta que las plantas tienen un año tres meses de edad, cuando éstas son transferidas al campo de cultivo permanente.

En observaciones hechas en el campo fue posible notar que en sitios que habían sido ocupados por viveros con este tipo de cobertura y después de casi un año de su utilización, se presentaba una carencia casi total de vegetación, excepto por algunos ejemplares de Tradescantia spp.

En este trabajo se estudia el papel de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn, var. pubescens y latiusculum, usado como cobertura en los almácigos y en los viveros durante el cultivo del café. Las plantas de café, Coffea arabica, utilizadas fueron de la variedad mundo novo, proporcionadas por el Instituto Mexicano del Café. Así mismo, se describen algunos experimentos de laboratorio sobre la influencia de extractos de frondas de P. aquilinum sobre la germinación de semillas de lechuga Lactuca sativa var. Dark green cos y de diente de león Lipidium sativum. Se obtuvo una fracción, parcialmente caracterizada, por arrastre con vapor de un hidrolizado ácido,

de frondas de p. aquilinum, lavada con cloroformo a PH 2, (Fracción A), con un efecto de inhibición de la germinación, que no es debido a factores de presión osmótica.

El residuo de una destilación exhaustiva, por arrastre con vapor, aún conserva un efecto de inhibición, lo que puede sugerir la existencia de más de un tipo de compuestos responsables de la inhibición de la germinación, observada en los bioensayos de laboratorio.

A partir de p. aquilinum han sido aislados compuestos que actúan como antimetabolitos para la tiamina. Entre los compuestos que presentan este tipo de actividad se encuentran el ácido 3,4,5 - trihidroxibenzóico (ácido gálico, 70 % de desactivación de tiamina) y la para - hidroxibenzoquinona ( hidroquinona, 60 % de desactivación de tiamina). Ambos compuestos fueron incorporados a los tratamientos efectuados en los viveros. Los compuestos anteriores y la fracción A, se aplicaron a diferentes unidades experimentales por aspersión foliar (hidroquinona  $10^{-2}$  M y ácido gálico  $10^{-3}$  M) a razón de 15 ml por unidad experimental, cada tercer día durante todo el período de observación.

Para estudiar el efecto de una cobertura de p. aquilinum, con respecto a una de Musa spp., a nivel de almácigo, se cubrieron con este material porciones escogidas aleatoriamente en el almácigo.

El diseño experimental para el vivero fue el de Bloques Completos al Azar, con un tamaño óptimo de muestra de 16 plantas por unidad experimental

y 4 repeticiones de cada una de ellas. Los tratamientos en el vivero experimental fueron: a) fracción A ; b) quinona; c) ácido gálico, éstos bajo una cobertura de Musa spp. ; d) cobertura de P. aquilinum y e) cobertura de Musa spp.. Una réplica sin deshierbe de los tratamientos anteriores fue incluida en cada uno de los bloques. Para el análisis de las mediciones, i.e. alturas y grosores, se utilizó el Análisis de Varianza con dos criterios, sin réplicas. Posteriormente se recurrió el método de separación de medias por pruebas de F planeadas, por comparaciones de clase.

En el almácigo, el porcentaje de germinación no pudo considerarse diferente para las coberturas utilizadas. Las alturas y los grosores de las plantas bajo P. aquilinum son menores que las que se encontraron bajo Musa spp. ( $p < 0.005$ ). A juzgar por los valores del cociente altura/grosor (índice de elongación relativa, i.e.r.), las plantas son menos altas que gruesas con respecto al mismo cociente para plantas bajo una cobertura de Musa spp. ( $p < 0.025$ ).

Para los experimentos efectuados en el vivero, utilizando las plantas cultivadas bajo Musa spp. en el almácigo, se observó un efecto por tratamientos significativo para las alturas de las plantas, a los seis meses de edad ( $p < 0.05$ ). Existe una diferencia significativa entre las alturas por efecto de cobertura sólo en ausencia de deshierbe, a los seis meses de edad las plantas bajo P. aquilinum son más altas ( $p < 0.05$ ).

Hay una muy significativa influencia del deshierbe sobre todos los tratamientos ( $p < 0.01$ ). Los lotes sin deshierbe son de una altura menor que las de los lotes con deshierbe, a los seis meses de edad. El tratamiento con la fracción A se comporta como una cobertura de p. aquilinum sólo en ausencia de deshierbe. Las plantas tratadas son más altas que los 'controles' con cubierta de Musa spp. a los seis meses de edad ( $p < 0.05$ ).

Los grososres de las plantas tratadas con hidroquinona son mayores que los controles con Musa spp. en ausencia de deshierbe, a los seis meses de edad ( $p < 0.05$ ).

El cociente i.e.r. es mayor para las plantas con cobertura de Musa spp. que las que tuvieron una cobertura de p. aquilinum, a los seis meses de edad ( $p < 0.05$ ).

Puede considerarse que el efecto observado en los parámetros poblacionales de las plantas de café fue más marcado a nivel de almácigos que los resultados obtenidos en el vivero experimental. El efecto de p. aquilinum podría ser más notable cuando sus frondas están en 'contacto' con las semillas de café desde antes de la germinación, con respecto a lo observado en el vivero experimental. El efecto de coberturas sobre las alturas es invertido con respecto a la edad de las plantas. A nivel de almácigo, P. aquilinum inhibe el crecimiento del tallo; a nivel de vivero (6 meses de edad), esta cobertura estimula el crecimiento longitudinal del tallo, sólo en ausencia de deshierbe. Los valores i.e.r. se

comportan de una forma análoga. El i.e.r. bajo P. aquilinum es menor en ambos casos. Posiblemente, esto podría conferir ventajas mecánicas durante los trasplantes a las plantas que fueron cultivadas bajo coberturas de P. aquilinum.

RESUMEN DE LAS DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS A UN NIVEL DE  
CONFIANZA 0.05 O MENORES

Las diferencias significativas a un nivel de confianza con valores iguales a 0.05 o menores son las siguientes:

En almácigo, las alturas y grosores de las plantas bajo P. aquilinum son menores que las que se encuentran bajo Musa spp. ( $p < 0.005$ ).

A juzgar por los valores i.e.r., las plantas son menos altas que gruesas con respecto al valor del mismo cociente para las plantas bajo una cubierta de Musa spp. ( $p < 0.025$ ).

Se observa un efecto por tratamientos para las alturas de las plantas en vivero a los seis meses de edad ( $p < 0.05$ ).

Existe una diferencia entre coberturas con P. aquilinum y Musa spp., sólo en ausencia de deshierbe, para las alturas de plantas en vivero a los seis meses de edad ( $p < 0.05$ ). Las plantas bajo P. aquilinum son más altas.

Hay una muy significativa influencia del deshierbe sobre todos los tratamientos ( $p < 0.01$ ). Los lotes sin deshierbe son de una altura menor que las de los lotes con deshierbe, a los seis meses de edad.

El tratamiento con la Fracción A, se comporta como una cobertura de P. aquilinum, en ausencia de deshierbe. Las plantas tratadas son más altas que los 'controles' con cubierta de Musa spp. a los seis meses de edad ( $p < 0.05$ ).

Los grosores de las plantas tratadas con quinona son mayores que los testigos con cobertura de Musa, en ausencia de deshierbe, a los seis meses de edad ( $p < 0.05$ ).

El cociente i.e.r. es mayor para las plantas con cobertura de Musa spp. que las que tuvieron una cobertura de p. aquilinum a los seis meses de edad ( $p < 0.05$ )

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ABDUL-WAHAB, S. & RICE, E.L. (1967) Plant inhibition by Johnson grass and its possible significance in old field succession. BULL TORREY BOT CLUB 94: 486-497.
- 2.- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL (1976) Selected references to the toxicology and carcinogenicity of bracken. AGRIC. RES. COUNCIL. (U.K.) No. 99.
- 3.- ANDRADE, S y LADEIRA, A.M. et al. (1977). Efeitos toxicos da "Samambaia" (Pteridium aquilinum) na alimentacao de cobaias. ARQ. INST. BIOL. (SAO PAULO), 44 (4) : 195-208.
- 4.- BASCAND, L.D. (1973) Ecological studies of shrub-weeds in new Zealand: a review. Proceedings of the 4th Asian-Pacific Weed science Society conference, Rotorua. p.c. 347-354.
- 5.- BEAUMOUT, A.C. et al. (1975). Cutting experiments in the control of bracken at Ruislip local nature reserve. Int. Pest control, 17 (3) : 4-8.
- 6.- BLACK, M. (1972). Control Processes in germination and dormancy, OXFORD UNIV. PRESS, LONDON.
- 7.- BOHM, B.A. and TRYON, R.M. (1967). Phenolic compounds in ferns. CANADIAN J. BOT. 45: 585 - +.
- 8.- BONNER, J. (1949). Am. J. Botany 36: 429 - +.
- 9.- BONNER, J. (1950). The role of toxic substances in the interaction of higher plants. BOT. REV. 16: 51-65.
- 10.- BOULLARD, B. (1973). How is control of bracken getting on? FORET PRIVEE FRANCAISE, No. 89: 76-77
- 11.- BOWER, - (1928). The Ferns. 3: 41-45.

- 12.- BROOKS, M.G. (1951). Effect of black walnut trees and their products on other vegetation. West Va. Univ. Agr. Expt. Sta. Bull. 347: 1-31.  
En: WHITTAKER, R.H. (1970).
- 13.- BRYAN, G.T. (1977). The pathogenesis of experimental bladder cancer. *CANCER RES.* 37 (8Pt.2): 2812-2816.
- 14.- BURDETTE, W.J. (1974). Colo rectal carcinogenesis. *CANCER*, 34 (SUPPL. 3): 872-877.
- 15.- BOUDET, A. "et al. (1971). *Phytochemistry*, 10: 997-+
- 16.- CAMPOS, N.O. et al. (1975). Study of the carcinoma of the upper digestive tract and enzootic hematuria in cattle in the region of Botucatu state of Sao- Paulo. *ARQ. ESC. VET. UNIV. FED. MINAS GERAIS* 27 (2): 125-139.
- 17.- CARPENTER, K. (1972). Some considerations of the relationship between biology control and importance of certain perennial weeds. *Cirsium arvense, Rumex, Pteridium aquilinum.* BAIT. WEED CONTR. CONF. PROC. 11 th CONF. 3: 948-957.
- 18.- CATHEY, H.M. (1964). Physiology of growth retarding chemicals. *ANN. REV. PLANT PHYSIOL.* 15: 271-302.
- 19.- CHEUNG, C.P. et al. (1979). Dependence of protein synthesis on RNA Synthesis during early hours of germination of wheat embryos *NATURE*, 277 (5691): 66-67.
- 20.- CLARK, A.M. (1976). Naturally occurring mutagens. *MUTAT. RES.* 32 (3-4): 361-374.
- 21.- COCHRAN, W.G. and COX, G.M. (1957). *Experimental Designs.* John Wiley Sons Inc. N. York, 611 pp.
- 22.- CODY, W.J. and CROMPTON, C.W. (1975). The biology of canadian weeds 15. *Pteridium aquilinum* (L.) *CAN. J. PLANT SCI.* 55 (4): 1059-1072.
- 23.- COOPER-DRIVER, G.A. and SWAINT, T. (1976). Cyanogenic polymorphism in bracken in relation to herbivore predation. *NATURE*, 260 (5552): 604 -+.

- 24.- IBID. (1976). Chemo-taxonomy and Phytochemical ecology of bracken. BOT. J. LINN. SOC. 73 (1-3): 35-46.
- 25.- COOPER, P. (1980). More chapters in the bracken saga. J. FOOD COSMET. TOXICOL. 18 (3): 311-312.
- 26.- COSTA, J. (1973). Quadro clínico anatomopatológico da intoxicação aguda por Samambaia nos bovinos (Pteridium aquilinum). ATUAL VET. 1 (6): 22-239.
- 27.- CRABBE, J. A. & Jeremy, A. C. (1975). A New Generic Sequence for the Pteridophyte Herbarium. Fern Gaz. 11, 2 y 3: 141-162.
- 28.- CURTIS, J. T. (1959). The Vegetatio of Wisconsin. The University of Wisconsin PRESS, MADISON.
- 29.- DAWES, D. S., and MARAVOLO, N. C. (1973). Isolation and characteristics of a possible allelopathic factor supporting the dominant role of Hieracium aurantiacum in the bracken grasslands of Northern Wisconsin. TRANS. WIS. ACAD. SCI. ARTS. LETT. 61: 235-251.
- 30.- del MORAL, R. and MULLER, C. H. (1969). Fog drip: a mechanism of toxin transport from Eucalyptus globulus. BULL. TORREY BOT. CLUB. 96: 467-475.
- 31.- DIAZ, R. O., ANDERSEN, P. P. et al. (1977). Weeds and weed control in cassava. TURRIALBA, 27 (4) : 319-326.
- 32.- DOBEREINER, J., OLSON, C. et al. (1966) Metabolites in urine of cattle with experimental bladder lesions and fed bracken fern Pteridium aquilinum (P.) PESQUI. AGROPECUAR. (BRASIL), 1: 189-199.
- 33.- DOLL, J. et al. (1977). An agroeconomical survey of the weeds and weeding practices in cassava (Manihot esculenta. Crantz.) in colombia. WEED RES. 17 (2): 153-160

- 34.- DOVER, P. A. (1975). Improvement of bracken infested grassland. J. BRITISH GRASSLAND SOC. 30 (1) : 90-+.
- 35.- DUKE, J. A. (1977). Phytotoxin Tables. CHEM. RUBBER CO. CRIT. REV. TOXICOLOGY 5 (3) : 189-237.
- 36.- EL-MOFTY, M. M. et al. (1980). Improvement in detecting the carcinogenicity of bracken fern Pterisaquilina using an egyptian Toad Buforegularis. ONCOLOGY (BASEL) 37 (6): 424-425.
- 37.- ERSHOVA, E. A. (1974). The bracken fern Pteridium aquilinum and measures for its contro. Pastures. Chemical weed control SIB. VESTN. S-KN NAUK 2: 104-107.
- 38.- EVANS, I. A. and MASON, J. (1965). Carcinogenic Activity of Bracken. NATURE, 208: 913-914.
- 39.- EVANS, I. A. (1968). Radiomimetic nature of Bracken toxin. CANCER RES. 28 (11): 2252-2261.
- 40.- EVANS, I. A. (1971). Bracken fern toxin. ONCOL. PROC. INT. CANCER CONGR. 10th Serie 5 pag. 178-195. Ed. Chicago, USA, Year Book Medical Publishers Inc.
- 41.- EVANS, I. A. WIDDOP, B. et al. (1971). The possible human hazard of the naturally occurring bracken carcinogen. BIOCHEM. J. 124 (2) : 28-29.
- 42.- EVANS, I. A. JONES, R. S. et al. (1972) a. Passage of bracken fern toxin into milk. NATURE, 237 (5350): 107-108.
- 43.- EVANS, I. A. MAINWARING-BURTON, R. (1972) b. Methods of study and the effects of the naturally occurring Bracken fern carcinogen in a nonhuman primate Macaca fascicularis. MEDICAL PRIMOTOLOGY. III. LYON, FRANCE.

- 44.- EVANS, W.C., WIDDOP, B. et al. (1972)  
Experimental poisoning by bracken  
rhizomes in pigs. VET. REC. 90 (17): 471-475.
- 45.- EVANS, I.A. (1973). The Bracken fern toxin. MUTAT. RES.  
SECT. ENVIRON. MUTAG. RELAT. SUBJ.  
21 (4): 218-219.
- 46.- EVANS, I.A. and OSMAN, M.A. (1974). Carcinogenicity of bracken  
and shikimic acid.  
NATURE, 250 (5464): 348-349.
- 47.- EVANS, W.C., EVANS, I.A. et al. (1975) a.  
Induction of Thiamine deficiency in sheep with  
lesions similar to those on cerebro cortical  
necrosis.  
J. COMP. PATHOL. 85 (2): 253-268.
- 48.- IBID. (1975) b. Thiaminases and their effects on ani-  
mals. En: MUNSON, P.L. et al. (Eds.)  
Vitamins and hormones.  
vol. 3 p. 467-+. Academic Press.  
N. York-London.
- 49.- EVANS, I.A. (1976). Relation ship between  
bracken and cancer.  
BOT. J. LINN. SOC. 73 (1-3): 105-112.
- 50.- EVANS, W.C. (1976) Bracken thiaminase mediated  
neuro-toxic syndromes.  
BOT. J. LINN. SOC. 73 (1-3): 113-131.
- 51.- EVANS, I.A. (1979). Bracken Carcinogenicity.  
RES. VET. SCI. 26 (3): 339-348.
- 52.- FERNALD, M.L. (1943). Edible wild plants of  
Eastern North America. Cornwall-on-  
Hudson, N. York. Idlewild Press, p.c. 71.
- 53.- FLETCHER, W.W. (1978). Bracken Pteridium- Past and Present.  
Phytotoxicity to Live stock.  
TRANS. BOT. SOC. (EDINB.)  
42 (SUPPL.): 1-9.

- 54.- FLETCHER, w.w. and KIRWOOD, R.C. (1979).  
The Bracken fern (Pteridium aquilinum): its  
biology and control. Experimental Biology of  
ferns (Experimental Botany: and international  
series of monographs. Vol. 13 p.c. 591-639)  
Academic press. LONDON.
- 55.- FOSTER, W.N.M. and CAMERON, A.E. (1968).  
Thrombocytopenia in sheep associated with  
experimental tick borne fever infection  
bracken- p soy bean- D.  
J. COMP. PATHOL. 78 (2): 251-254.
- 56.- FUKUOKA, M. et al. (1978) Chemical and toxicological studies  
on bracken fern Pteridium aquilinum . var Lat.  
4. Surveys on bracken constituents by mutagen test.  
J. PHARMACOBIO- DYN. 1 (5): 324-331.
- 57.- GARCIA, E. (1970). Los climas del estado de Veracruz.  
ANAL. INST. BIOL. 41 (1) Ser. Bot.: 1.
- 58.- GLASS, A.D.M. (1976). The allelopathic potential of phenolic  
acids associated with the rhizosphere of Pteridium  
aquilinum. CAN. J. BOT. 54 (21): 2440-2444.
- 59.- GLIESSMAN, S.R. (1973). Role of Phytotoxins in the interference  
with associated plants by bracken (Pteridium  
aquilinum).  
DISS. ABSTR. INT. B, 34 (2): 631-632.
- 60.- GLIESSMAN, S.R. and MULLER, C.H. (1972).  
The phytotoxic potential of bracken  
Pteridium aquilinum.  
MADRONO, WEST AM. J. BOT.  
21 (5 part. 1 ): 299-304.
- 61.- GLIESSMAN, S.R. (1976). Allelopathy in a broad  
spectrum of environments as illustrated by  
Bracken.  
BOT. J. LINN. SOC. 73 (1-3): 95-104.
- 62.- GLIESSMAN, S.R. (1978). The establishment of bracken  
Pteridium aquilinum following fire in tropical  
habitats. Costa Rica.  
AM. FERN J. 68 (2) : 41-44.

- 63.- GLIESSMAN, S.R. and MULLER, C.H. (1978).  
The allelopathic mechanism of  
dominance in bracken p. aquilinum in Southern  
California.  
J. CHEM. ECOL. 4 (3): 337-362.
- 64.- GOODWIN, T.W. (1976). Chemistry and Biochemistry of Plant  
pigments. 2d. Ed.  
Academic Press. N. York.
- 65.- GRIME, J.P. (1977). Evidence for the existence of three primary  
strategies in Plants and its relevance to ecological  
and evolutionary theory.  
THE AMERICAN NATURALIST.  
111 (982): 1169-1194.
- 66.- GREAT BRIT. MIN. AGR.FISH FOOD. (1972). Adv. Leaf. 190.
- 67.- HANAWALT, R.B. (1971). Inhibition of annual plants by  
Arctostaphylos. p. 33-38.  
En: Biochemical Interactions among  
plants. NATL. ACAD. of. SCI.  
WASHINGTON, USA.
- 68.- HAGGAR, R.J. (1974). Current research on the selective control  
of grassland weeds by the weed Research Organization.  
PROCC. 12 th INT. GRASSLAND CONGRESS.  
MOSCOW. Section Chemicalization of grassland  
farming. Part. 1 p.c. 183-191.
- 69.- HARDING, J.D.J. (1972). Bracken (Pteridium aquilinum)  
poisoning in pigs.  
AGRICULTURE (U.K.) 79 (7): 313-314.
- 70.- HAYAKAWA, Y. (1972). Bracken feeding by cattle on the pasture.  
RES. BULL. HOKKAIDO NATL. AGRIC.  
EXPT. STATION No. 100: 78-90.
- 71.- HAYASHI, I. YAMANE, O. (1979). Correlation of blood platelet  
count and petechiae on the visible mucous  
membrane in grazing cattle (effected with bracken  
fern poisoning). BULL. FACULTY AGRIC.  
TOTTORI UNIV. 31: 148-151.

- 72.- HEMMINGSON, J.A. and LEARY, G. (1975).  
The chemistry of reactive lignin  
Intermediates. Part II.  
J. CHEM. SOC. PERKIN TRANS. II.  
No. 14: 1584-1587.
- 73.- HENDRIX, S.D. (1977). The resistance of *p. aquilinum* to insect  
attack by *Trichoplusia*-NIOECOLOGIA (BERL)  
26 (4): 347-362.
- 74.- HIKINO, H. et al. (1970). Structure of Pteroside B.  
Glycoside of *p. aq.* var. *latiusculum*.  
CHEM. PHARM. BULL. 18 (7): 1488-1489.
- 75.- HIKINO, H. (1971). Pteroside z and D glycosides of *p. aq.* var.  
*latiusculum*.  
CHEM. PHARM. BULL. 19 (11): 2424-2425.
- 76.- HIRATA, Y. (1978). Structures and Biological activities of some  
natural products.  
PURE. APPL. CHEM. 50: 979-986.
- 77.- HIRONO, I. et al. Studies on carcinogenic properties of bracken  
*Pteridium aquilinum*.  
J. NATL. CANCER INST. 45 (1): 179-188.
- 78.- HIRONO, I. et al. (1972). Carcinogenic activity of processed Bracken-P  
used as human food.  
J. NATL. CANCER INST. 48 (4): 1245-1250.
- 79.- HIRONO, I. et al. (1975). Natural carcinogenic products of plant  
origin. En: ODASHIMA, S. "et al". (Ed.) GANN  
MONOGRAPH ON CANCER RES. No. 17 p.c. 205-217  
University of Tokyo Press. TOKYO, JPN
- 80.- HIRONO, I. et al. (1977) a. Experimental studies on sites  
of tumor development in the intestine by Chemical  
carcinogens.  
En: FARBER, E. (Ed.) PROCC. 7 th.  
International symposium of the princess  
TAKAMATSU CANCER RES. FUND, TOKYO. UNIV.  
PARK PRESS BALTIMORE, MD., USA.

81. - HIRONO, I. et al. (1977) b. Carcinogenicity Test of Shikimic acid in rats.  
TOXICOL. LETT. (AMST). 1 (1): 9-10.
82. - HIRONO, I. et al. (1978), Carcinogenicity of boiling water extract of bracken p. aquilinum GANN, 69 (3): 383-388.
83. - HIRONO, I. (1979). Naturally occurring carcinogenic substances. En: SUGIMURA, T. et al. (Ed.) GANN MONOGRAPH ON CANCER RES. No. 24 p.c. 85-102. JAPAN SCI. SOC. PRESS, TOKYO.; UNIV. PARK PRESS, BALTIMORE, MD. USA.
84. - HODGE, W.H. (1973). Fern foods of Japan and the problem of Toxicity.  
AM. FERN J. 63 (3): 77-80.
85. - HORSLEY, S.B. (1977). Allelopathic inhibition of black cherry by fern, grass goldenrod and Aster. CAN. J. FOR. RES. 7 (2): 205-216.
86. - HOSKING, W.J. (1973). Bracken is persistent. to beat it, be more persistent.  
J. AGRIC. VICTORIA, 71 (12): 435-437.
87. - HUTCHINSON, S.A. (1976). The effects of fungi on bracken.  
BOT. J. LINN. SOC. 73 (1-3): 145-150.
88. - HOWELL, R.M. and EVANS, A. (1967). Chromatographic characteristics of fibrinogen and seromuroid in bovine bracken poisoning.  
J. COMP. PATHOL. 77 (2): 117-128.
89. - IDRUS, A.Z. (1977). The effect of phenothiazide on the toxicity of bracken to sheep.  
PROC. NUTR. SOC. 36 (2): 83 -+.
90. - INUI, S., NAMBA, K. et al. (1974). Correlation of hemotological and histopatological findings on experimental bracken Pter. a. poisoning of cattle on pasture.  
NATL. INST. ANIM. HEALTH BULL. (TOKYO) 69: 18-23.

- 91.- ISHII, K. et al. (1974). Histamine releasing action of acetone dried powder of bracken fern on the rat peritoneal mast cells. J. of the FACULTY OF AGRICULTURE, TOTTORI UNIV. 9: 27-33.
- 92.- ISHII, K. et al. (1979). Studies on the histamine releasing activity of bracken fern. I. fractionation of the active ingredient by gel chromatography on Sephadex, BULL. of the FACULTY OF AGRICULTURE, TOTTORI UNIV. 31: 134-139.
- 93.- JAKOBSONS, P. (1976). Herbicide trial to control Pteridium aquilinum. VOLLEBEKK, NORWAY; STATENS PLANTAVERN UGRASBIOLOGISK, AVDELING/MIDDELKONTROLLEN, No. 120.
- 94.- JANGAARD, N.O. (1974). The Characterization of phenylalanine ammonia-lyase of several plant species. PHYTOCHEM. 13: 1765-1768.
- 95.- JARRET, W.F.H. (1980). Bracken fern and Papilloma virus in bovine alimentary cancer. BR. MED. BULL. 36 (1): 79-81.
- 96.- JARVIS, M. and DUCAN, H.J. (1974). Distribution of Glycolipids and Phospholipids in Pteridium aquilinum. PHYTOCHEM. 13: 979-981.
- 97.- JOSHI, H.C. and PRASAD, B. (1975). Studies on the thiamine and certain blood constituents in chronic bovine hematuria., Pteridium aquilinum poisoning. INDIAN VET. J. 52 (7): 568-570.
- 98.- KAHN, A. (1960). An analysis of dark-osmotic inhibition of germination of lettuce seeds. PLANT PHYSIOL. 35: 17-+.
- 99.- KAPADIA, G.C. (1978). Carcinogenicity of some folk medicinal herbs in rats. J. NATL. CANCER INST. 60 (3): 683-686.
- 100.- KARBE, E. (1971). Causes of tumors in domestic animals. SCHWEIZ ARCH. TIERHEILKD 113 (11): 601-614.

- 101.- KAWAMURA, M. and KIMURA, S. (1979). Preventive activities of bracken (Pteridium aquilinum) component and some nucleic acid compounds on the oxidation of L-ascorbic acid. J. JAPANESE SOC. FOOD NUTRITION. 32 (6) : 363-368.
- 102.- KINGS, J.M. (1964). Poisonous plants of the United States and Canada, Prentice Hall Inc. N, Yersey, p.c. 105-113.
- 103.- KIRK, A. A. (1977). The insect fauna of the weed Pter. aq. polypodiaceae in Papua New-Guinea. A potential source of biological control agents. J. AUST. ENTOMOL. SOC. 16 (4) : 403-409.
- 104.- KITAHARA, Y. (1967). Experimental Bracken-D poisoning in COWS, NIP. VET. ZOOL. COL. 16: 107-+.
- 105.- KITAHARA, Y. (1974). Experimental studies of bracken poisoning in cattle. BULL. NIPPON VET. ZOOTECH. COLL. 23: 88-107.
- 106.- KOBAYASHI, A. and KOSHIMEZU, K. (1980). Cyto-toxic effects of bracken fern Pter. aq. constituents pterosins on Sea-urchin Anthocidaris crassispina embryos and a ciliate Paramecium caudatum. AGRIC. BIOL. CHEM. 44 (2): 393-398.
- 107.- KONISHI, T. et al. (1971). Clinical and pathological studies on bracken-p poisoning of cattle at Tokachi District. RES. BULL. OBIHIRO ZOOTECH, UNIV. ser. 1, 7 (2): 216-239.
- 108.- KONOVALOV, N.A. and LUGANSKII, N.A. (1968) Extracts of some forest plants on fermentation of pine-G and larch seeds. SB. TR. URAL LESOTECH. INST. Trans. 96-98
- 109.- KREBS, CH. J. (1978). Ecology 2nd. ED. HARPER Int. N. York-London. 678 p.p.

110. - KUROYANAGI, M. et al. (1979). Chemical and toxicological studies on bracken fern, *Pter. a.* var. *Latusculum*. III. Further characterization of pterosines and pterosides. CHEM. PHARM. BULL. 27 (3) : 592-601.
111. - LAWTON, J.H. (1976). The structure of the arthropod community on bracken. BOT. J. LINN. SOC. 73 (1-3): 187-216.
112. - LAWTON, J.H. (1978). *Olethreutes lacunana* (D., B.) (Lepidoptera: Tortricidae) feeding on bracken. ENTOMOLOGIST'S GAZETTE 29 (3) : 131-134.
113. - LEACH, H. et al. (1971). Isolation of an active principle from the bracken fern-p that is mutagenic, carcinogenic and lethal to mice on intraperitoneal injection. BIOCHEM. J. 124 (2): 13-14.
114. - LEOPOLD, A.C. & KRIEDEMANN, P.E. (1975). Plant Growth and Development. McGraw Hill. N. York. 545 p.p. illus.
115. - LEVY, G.F. (1970). The phytosociology of Northern Wisconsin upland openings. AMER. MID. NAT. 83: 213-237.
116. - LIAU, T.L. (1974). The comparative experiments on the preventative effectiveness of 37 % Asulox S To the weeds of a tea plantation. TAIWAN AGRIC. QUARTERLY 10 (2): 53-68.
117. - LOWDAY, J.E. and WELLS, T.C.E. (1977). The management of grassland and heathland in country parks. COUNTRYSIDE COMMISSION PUBLICATION, 1977 No. CCP 105, 71 p.p.
118. - LUND-Hoeie, K. (1974). Norwegian experiences concerning herbicides for the control of weeds in forest plantations. WEEDS and WEED CONTROL. PROC. 15 th SWEDISH WEED CONFERENCE. UPPSALA, SWEDEN, LANTBRUKSHOGSKOLAN, Par 1.

- 119.- LUND-HOEIE, K. (1975). N-phosphonomethyl glycine (glyphosate) an alternative to the phenoxy acids for the control of unwanted plant species in forest plantations in Norway.  
8th. INT. CONGRESS PLANT PROTECTION, REPORTS and INFORMATIONS, Sec. 3 CHEM. CONTROL. Part. 2: 490-491.
- 120.- MAEDA, T. (1975). Fundamental studies on the etiology of hematuria vesicalis bovis. I. The induction of carcinomas and hemorrhags on the urinary bladder in guinea pigs by feeding bracken fern (Pter. a.). TRANS. TOTTORI SOC. AGRIC. SCI, 27: 79-88.
- 121.- MAEDA, T. (1978). Studies on chronic bovine hematuria vesicalis due to tumors. V. Etiological investigation (Adverse effects of long term feeding of bracken Pteridium). 31 (5) : 277-282.
- 122.- MAC LEAN, G.J. et al. (1970). Diagnosis of disorders in pastured livestock. DOWN EARTH, 25 (4): 12-16.
- 123.- Mc AULIFFE, P.R. (1976). Plant poisoning in the western District. VICTORIAN VETTERINARY PROCEEDINGS 34: 26-27.
- 124.- Mc. CALLA, T.M. (1971). Studies on phytotoxic sustances from soil microorganisms and crop residues at Lincoln, Nebraska, p. 39-43. EN: Biochemical Interactions among Plants. NATL. ACAD. SCI. WASHINGTON.
- 125.- Mc PHERSON, J.K. et al. (1971). Allelopathic constituents of the chaparral Shrub, Adenostoma fasciculatum. PHYTOCHEM. 10: 2925-2933.
- 126.- MARCHANT, H.J. (1979). Microtubules, cell wall deposition and the determination of plant cell shape NATURE, 278: 167-168.
- 127.- MARCEAU, W.M. and REID, A. (1976). Preliminary studies on seuccesion in Pteridium aquilinum bracken fern dominated communities. PROC. ROCHESTER ACAD. SCI. 13 (1): 26-+.

128. - MARTIN, D.J. (1976). Control of bracken.  
BOT. J. LINN. SOC. 73 (1-3): 241-246.
129. - MASON, J. et al. (1973). Some biochemical observations on a preliminary retinal degeneration in sheep.  
EXP. EYE RES. 15 (1): 51-60.
130. - MATSUSHIMA, T. et al. (1975). Bioassay of environmental carcinogens with the guppy Lebistes reticulatus.  
MUTAT. RES. 31 (4): 265-74.
131. - MENDEZ, I.R. (1976). Conceptos muy Elementales del Muestreo con Enfoque en la Determinación Práctica del Tamaño de Muestra.  
Comunicaciones Técnicas, serie Azul, IIMAS.  
UNAM. 3: 25 (1-54).
132. - MEDSGER, O.P. (1939). Edible wild Plants.  
Mac. Millan Co. N. York, p.c. 135.
133. - MILLER, E.C. and MILLER, J.A. (1979). Naturally occurring chemical carcinogens that may be present in foods.  
En: NEUBERGER, A. and JUKES, T.H. (Eds.)  
INTERNAT. REV. BIOCHEM. 27: 123-126.
134. - MILLER, J.A. and MILLER, E.C. (1976). Carcinogens occurring naturally in foods. FED. PROC. 35 (6): 1316-1321.
135. - MORI, H. et al. (1977). Effect of drying with hot forced draft and of mincing bracken fern on its carcinogenic activity. GANN 68 (4): 517-520.
136. - MORI, H. et al. (1979). Transplantable ileal adenocarcinomas of adult rats. GANN.  
70 (3): 371-378.
137. - Mueller, S.B.K., Madureira, F.R., et al. (1975). An attempt at reproducing experimentally enzootic haematuria in cattle by feeding bracken. Arquivos do Instituto Biológico, 42: 203-211. Sao Paulo, Brazil.
138. - MUHLE, O. and HUSS, J. (1972). The effect of weed control operations and their timing on the growth of young norway spruce. ALLGEMEINE FORST. UND. JAGDZEITUNG. 143(12): 253-260.

- 139.-MULLER, C.H. (1966). The role of Chemical Inhibition (Allelopathy) in vegetational composition BULL. TORREY BOT. CLUB 93: 332-351.
- 140.- MULLER, C.H. "et al. (1968). Volatile growth inhibitors produced by *Salvia leucophylla*: Effect on Seedling, growth and respiration. BULL. TORREY BOT. CLUB 95: 415-427.
- 141.- MULLER, C.H. (1969). Allelopathy as a factor in ecological process. VEGETATIO 18: 348-357.
- 142.- NAKABASHI, T. (1955). Isolation of Astragalol and Isoquercitrin from bracken *Pteridium aquilinum*. BULL. AGR. CHEM. SOC. (JAPAN) 19 (2): 104-109.
- 143.- NALEWAJA, J.D. (1972). Weeds: coexistence or control. J. ENVIRONMENTAL QUALITY. 1 (4): 344-349.
- 144.- NEGM, F.B. et al. (1972). Interaction of Carbon Dioxide and Ethylene in overcoming thermodormancy of lettuce seeds. PLANT PHYSIOL. 49: 869-872.
- 145.- NEGM, F.B. (1973). The role phytochrome in an interaction with ethylene and carbon dioxide in overcoming lettuce seed thermodormancy. PLANT PHYSIOL. 51: 1089-1094.
- 146.- NEGM, F.B. and SMITH, O.E. (1978). Effects of Ethylene and carbon dioxide on the germination of osmotically inhibited lettuce seeds. PLANT PHYSIOL. 62: 473-476.
- 147.- NEWBERNE, P.M. (1976). Biological effects of plant toxins and aflatoxins in rats. J. NATL. CANCER INST. 56 (3): 551-553.
- 148.- NICHOLSON, I.A. and PATERSON, I.S. (1976) The ecological implications of bracken control to plant/animal Systems. BOT. J. LINN. SOC. 73 (1-3): 269-283.
- 149.- NORTH SCOTLAND COLLEGE OF AGRICULTURE, U.K. (1975) Research investigations and field trials 1973-74. ABERDEN, U.K. 234 p.

- 150.- IBID (1977). Annual Report, 1975-76 ABERDEN, U.K. 134 p.
- 151.- NORTON, H.H. (1979). Evidence for bracken fern as a food for aboriginal peoples of western Washington. ECONOMIC BOTANY. 33 (4): 384-396.
- 152.- O'DONOVAN, M.R. et al. (1977). Embryo toxic properties of Shikimic acid. IRCS MED. SCI-LIBR. COMPEND. 5 (11): 514-+.
- 153.- OETTMEIER, W. Et al. (1978). Quantitative Structure-activity relationships of substituted Benzoquinones as inhibitors of photosynthetic electron transport. Z. NATURFORSCH. 33: 695-703.
- 154.- OLDENKAMP, L. et al. (1971). Control of bracken (Pteridium aquilinum). NETHERLANDS BOSBOUW TIJDSCHRIFT, 43 (2): 34-38.
- 155.- PAGE, C.N. 1976). The taxonomy and phytogeography of bracken-A review. BOT. J. LINN. SOC. 73 (1-3): 1-34.
- 156.- PAMUKCU, A.M. (1955). Investigations on the pathology of Enzootic Bovine hematuria in Turkey. ZENTRABL VETERINAERMED 2: 409-429.
- 157.- PAMUKCU, A.M. (1962). Tumors of the urinary bladder in cattle with special reference to etiology and histogenesis. ACTA UN. INT. CONTRA CANCER 18: 625-638.
- 158.- PAMUKCU, A.M. (1963). Epidemiologic studies on urinary bladder tumors in turkish cattle. ANN. N.Y. ACAD. SCI. 108 938-947.
- 159.- PAMUKCU, A.M. et al. (1967). Urinary Bladder Neoplasms Induced by feeding bracken fern. (Pteris aquilina) to cows. CANCER RES. 27: 917-924.

- 160.- PAMUKCU, A.M. and PRICE, J.M. (1969). Induction of intestinal and urinary bladder cancer in rats by feeding bracken fern Pteris aquilina-P. J. NAT. CANCER INST. 43 (1): 275-281.
- 161.- PAMUKCU, A.M. and PRICE, J.M. (1970). Assay of fractions of bracken fern Pteris aquilina-p. for carcinogenic activity. CANCER RES. 30 (4): 902-905.
- 162.- PAMUKCU, A.M. et al. (1970). Effects of the co-administration of thiamine on the incidence of urinary bladder carcinomas in rats fed Bracken fern-p. CANCER RES. 30 (11): 2671-2674.
- 163.- PAMUKCU, A.M. et al. (1971). Pheno thiazine inhibition of intestinal and urinary bladder tumors induced in rats by bracken fern-p. J. NATL. CANCER INST. 47 (1): 155-159.
- 164.- PAMUKCU, A.M. et al. (1972). Lymphatic leukemia and pulmonary tumors in female swiss mice fed bracken fern Pteris aquilina-p. CANCER RES. 32 (7): 1442-1445.
- 165.- PAMUKCU, A.M. (1974). Tumors of the urinary bladder. BULL. W. H. O. 50 (1-2): 43-52.
- 166.- PAMUKCU, A.M. et al. (1976). Histogenesis of urinary bladder cancer induced in rats by Bracken fern. INVEST. UROL. 15 (3): 213-218.
- 167.- PAMUKCU, A.M. and PRICE, J.M. (1976). Naturally occurring and Bracken fern induced Bovine urinary bladder tumors. Clinical and morphological characteristics. VET. PATHOL. 13 (2): 110-122.
- 168.- PAMUKCU, A.M. et al. (1977). Inhibition of carcinogenic effect of bracken fern by various chemicals. CANCER (PHILA.). 40 (5 Suppl.): 2450-2454.
- 169.- PAMUKCU, A.M. et al. (1978). Carcinogenic and mutagenic activities of milk from cows fed bracken fern Pteridium aquilinum. CANCER RES. 38 (6): 1556-1560.

1770. PAMUKCU, A.M. et al. (1980) Quercetin, a rat intestinal and bladder carcinogen present in bracken fern *Pteridium aquilinum*. CANCER RES. 40:1(10): 38468-38472.
1771. PAMUKCU, A.M., WANG, C.Y. (1980) Carcinogenicity of tannin and tannin-free extracts of bracken fern *Pteridium aquilinum* in rats. J. NATL. CANCER INST 65:1(1): 131-136.
1772. PENALOZA, R.R. and VOLGER, C.C. (1972) Control of *Pteridium aquilinum* with Granex F. FORESTRY ABSTRACTS 34:1040.
1773. PHILP, R.B. et al. (1967) Anemia, Thrombocytopenia and reduced platelet adhesiveness in rats fed bracken fern and protective effect of butyl alcohol. NATURE. 211 65(5114): 498-499.
1774. PIRIE, H.V.M. (1973) Unusual occurrence of squamous carcinoma of the upper alimentary tract in cattle in Britain. RES VET SCI 15(1): 135-138.
1775. PIZARRO, A.F.P. (1974) Ferns and their relation to hematuria. REVISTA COMALF 1(2): 58-68.
1776. PEISS, G.B. (1979) Tumour-causing activity of *Pteridium aquilinum*. RASSTAVIM KANKEROGENY (SMB.) p.c. 109-12. NAUKA, L. LENINGRAD, USSR.
1777. PREEST, D.S. (1975) Review of and observations on current methods of bracken control in forestry. PROC. 228th NEW ZEALAND WEED AND PEST CONTROL, FOREST RES. INST. ROTORUA, NEW ZEALAND p.p.c. 43-48.
1778. PREEST, D.S. (1978) Bracken-tinting and bracken igitox. PROC. 313th NEW ZEALAND WEED AND PEST CONTROL CONFERENCE p.c. 69-73 RES. INST. ROTORUA, NEW ZEALAND.
1779. PRICE, J.M. and PAMUKCU, A.M. (1968) The induction of Neoplasms of the urinary bladder of the cow and the small intestine of the lamb feeding bracken fern (*Pteris aquilina*). CANCER RES 28:2274-2281.

180. - PRIDHAM, J.B. (1965). Low molecular weight phenols in higher plants. ANN. REV. PLANT PHYSIOL. 16: 13-36
181. - PULLMAN, B and PULLMAN, A. (1963). Quantum Biochemistry. Intersc. Publ. N. York.
182. - PURTSKHAVANIDZE, S. (1973). The effectiveness of simazine and mulching on a fully bearing tea plantation in Kvemo, Imeretiya. SUBTROPICHESKIE KUL'TRUY, No. 4: 24-26.
183. - RAO, V.S. et al. (1977). Control of persistent weeds of tea. PROC. 28 th. TOCKLAI BIENNIAL CONFERENCE 1977. p.c. 61-64.
184. - RHODES, M. and WOOLTORTON, L. (1973). Phytochemistry. 12: 2381-+.
185. - RICE, E.L. (1965). Inhibition of Nitrogen fixing and Nitrifying Bacteria by seed plants. II. Characterization and identification of inhibitors. PHYSIOL. PLANTARUM. 18: 255-268.
186. - RICE, E.L. (1974). Allelopathy. Academic Press, London-N. York p.p. 353.
187. - ROBERTS, I.M. et al. (1971). A T-4 Bacterio phage reversion test for the naturally occurring mutagen present in bracken fern-P. Pteridium aquilinum-P. BIOCHEM. J. 124(2): 13-+.
188. - ROBBINS, W. et al. (1969). Destruccion de Malas hierbas. Ed. UTEHA. México.
189. - ROBOCKER, W.C. (1971). Herbicidal supression of bracken-P and effects on forage production. WEED SCI. 19(5): 538-541.
190. - SAITO, M. et al. (1975). Cytotoxicity and carcinogenicity of Pterosins and Pterosides. I. Indanone derivatives from bracken Pteridium aquilinum. EXPERIENTIA (BASEL) 31(7): 829-831.

191. - SAITO, T. et al. (1979). Studies on the histamine releasing activity of bracken fern. II. Demonstration of glucosides in the active extract. BULL. FACULTY AGRIC. TOTTORI UNIV. JPN 31: 140-147.
192. - SCHACHAM, et al. (1970). Anti-hematopoietic and carcinogenic effects of bracken fern Pteridium aquilinum-P in rats. AMER. J. VET. RES. 31(1): 191-197.
193. - SCHEWE, T. et al. (1975). On the distribution of endogenous inhibitors of the respiratory chain in plants. ACTA BIOL. MED. GER. 34(11-12): 1807-1825.
194. - SEARLE, C.E. (1976). Chemical Carcinogens. AM. CHEM. SOC. MONOGRAPH Vol. 173.
195. - SMITH, C.S. (1975). The prospect that faded: Bracken control. ESSO FARMER 27(1): 3-7.
196. - SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. (1969). BIOMETRY. W.H. Freeman, Co. San Fco.
197. - SOMOGYI, J.C. (1969). Connection between chemical structure and antithiamine activity of various phenol derivatives. INTERNAT. J. VIT. RES. 39: 65-73.
198. - SOMOGYI, J.C. (1971). On antithiamine factors of fern. J. VITAMINOLOGY 17: 165-174.
199. - SORENSON, D.D. (1972). Cattle dying? It could be bracken fern. WORLD FARMING. 14(4): 18-20.
200. - SPARKE, C.J. (1979). Seed populations in the soil in hill land infested with bracken (Pteridium aquilinum). PROC. EWRS. SYMPOSIUM ON THE INFLUENCE OF DIFFERENT FACTORS ON THE DEVELOPMENT AND CONTROL OF WEEDS. MAINZ. p.c. 265-272.
201. - STARY, P. (1974). Biological control of Pteridium aquilinum. ZIVA 22(4): 148-+.
202. - STAVRIC, B. and STOLTZ, D.R. (1976). SHIKIMIC ACID. FOOD COSMET. TOXICOL. 14(2): 141-145.

- 203.- STEWARD, F.C. (Ed.) (1969). Plant Physiology  
Vol. V, B. Acad. Press, N. York- London.
- 204.- STEWARD, R.E. (1975). Allelopathic Potential of western  
bracken. J. CHEM. ECOL.  
1(2): 161-169.
- 205.- STRATTON, R. (1943). Edible wild Greens and Salads of  
Oklahoma. BULL. OKLAHOMA AGRIC.  
MECH. COLL. 40: 25+.
- 206.- THIMANN, K.V. (1969). The Auxins, p. 1-45. en  
Malcom, B.W. (Ed.). The Physiology of  
Plant Growth and Development.  
Mc Grow-Hill, N. York.
- 207.- TOMASZEWSKI, M. and THIMANN, K.V. (1966). Interactions  
of Phenolic Acids, Metallic Ions and Chelating  
Agents on Auxin- Induced Growth.  
PLANT PHYSIOL. 41: 1443-1454.
- 208.- TRYON, Jr. R.M. (1941). A Revision of the Genus *Pteridium*.  
*Rhodora*, 43: 1-31 y 37-67.
- 209.- TUSTIN, R.C. et al . (1968). Bracken-P poisoning in cattle in  
the natal South Africa midlands *Pteridium aquilinum*. -  
P protamine sulfate antidote. J. S. AFR. VET.  
MED. ASS. 39(3): 91-99.
- 210.- UMEZAWA, K. et al . (1977). In vitro transformation of hamster  
embryo cells by quercetin.  
TOXICOL. LETT. 1(3): 175-178.
- 211.- USHIMARU, Y. (1978). Studies for the detection of bracken  
carcinogen. GIFU DAIGAKU IGAKUBU KIYO,  
26(3): 368-380.
- 212.- VAN SUMERE, C.F. et al . (1971). Biochemical studies in rela-  
tion to the possible germination role of naturally  
occurring coumarin and phenolic compounds.  
RECENT ADV. PHYTOCHEM. 4: 165-221.
- 213.- VAZQUEZ, A., MENDEZ, J. et al . (1968). Growth  
sustances Isolated from wood cuttings of  
*Salix vitaminialis* L. and *Ficus caprica*  
L. PHYTOCHEM. 7: 161-167.

- 214.- WAIN F.R.S. (1975). Some developments in Research on plant growth inhibitors. PROC. R. SOC. LOND. B. 191: 335-352.
- 215.- WAIN, R.L. (1979). El control químico de crecimiento de las plantas. p.c. 13, En: Ondarza, R.N. (Ed) Los Reguladores de las plantas y los insectos. CONACYT. MEXICO.
- 216.- WALKER, J.R.L. (1975). The Biology of Plant Phenolics. Studies in Biology No. 54. The Inst. Biol. Ed. E. Arnold. London.
- 217.- WANG, T. and CHUANG, T (1967). Soil Phenolic Acids as Plant Growth inhibitors. SOIL SCI. 103: 239-246.
- 218.- WANG, C.Y. et al. (1973). Insolation of fumaric-acid, succinic-acid, phtalic-acid ester astragalin and iso-quercetrin from Bracken fern. FED. PROC. 32(3 Part 1): 521-+.
- 219.- WANG, C.Y. et al. (1973 b). Detection of carcinogenic activity in different extracts of bracken fern. PROC. AM. ASSOC. CANCER RES. 14: 12+.
- 220.- WANG, C.Y. and PAMUKCU, A.M. (1976). Bracken fern as a naturally-occurring carcinogen. MED. BIOL. ENVIRON. 4(2): 567-572.
- 221.- WANG, C.Y. and CHIU, C.W. (1976). Identification of carcinogenic tannin isolated from bracken fern (Pter. aq.) J. NATL. CANCER INST. 56(1): 33-36.
- 222.- WATSON, W.A. and BARNETT, K.C. (1970). Bright Blindness in sheep. The relation ship to environment. BRIT. VET. J. 126(9): 482-486.
- 223.- WATSON, W.A. (1972). Progressive retinal degeneration bright blindness in sheep. A Review. VET. REC. 91(27): 665-670.

- 224.- WATSON, W.A. et al. (1972) b. Experimentally produced progressive retinal degeneration bright blindness in sheep. BR. VET. J. 128(9): 457-465.
- 225.- WATT, A.S. (1976). The ecological status of bracken. BOT. J. LINN. SOC. 73(1-3): 217-239.
- 226.- WATT, G. and TUSTIN, J. (1975). The economics of herbicides in New Zealand plantation practice. PROC. F.R.I. SYMPOSIUM 18. ROTORUA, N. ZEALAND p.c. 293-301.
- 227.- WAYGOOD, E.R. and Mac LACHLAND, G.A. (1961). Inhibition and Retardation of the Enzymatically catalized oxidation of Indole-3-acetic acid. p.c. 149-166. En: Plant Growth Regulation. Iowa State Univ. Press, AMES, U.S.A.
- 228.- WEINTRAUB, R.L. (1948). Influence of light on chemical Inhibition of lettuce seed germination. SMITHSONIAN MISC. COLLNS. 107: 1-8.
- 229.- WENT, F.W. (1942). The dependence of certain annual plants on shrubs in Southern California deserts. BULL. TORREY BOT. CLUB. 69: 100-114.
- 230.- WEST OF SCOTLAND AGRICULTURAL COLLEGE (1974). Annual Report 1974. AUCHINCUIVE, AYR. 144 p.
- 231.- IBID. (1979). Annual Report 1979. AUCHINCUIVE, AYR. 205 p.
- 232.- WENT, F.W. (1970). Plants and the chemical environment. p. 71-81. En: SONDHEIMER, E. and SIMEONE, J. (Eds.) CHEMICAL ECOLOGY. Academic Press, N. York.
- 233.- WHITEHEAD, D.C. (1964). Identification of para-hydroxybenzoic, para-coumaric and ferulic acids in soils, NATURE, 202: 417-418.
- 234.- WHITTAKER, R.H. (1970). The biochemical ecology of higher plants. p. 43-66. En: SONDHEIMER, E. y SIMEONE, J. (Eds.) Chemical Ecology. Academic Press, N. York.

- 235.- WIDDOP, B. (1967). Separation and charecterization of various toxicological components of bracken. Ph. D. Thesis. University of Wales, Bangor.
- 236.- YAMANE, O. et al . (1975) . Experimental studies on bracken poisoning of cattle. clinical findings and blood figures. BULL. FACULTY AGRIC. TOTTORI UNIV. JPN. 27:68-78.
- 237.- YAMANE, O. et al . (1975b). Studies on hemorrhagic diathesis of experimental bovine bracken poisoning. II. Heparine like sustance level in blood. JAP. J. VET. SCI. 37(4): 341-347.
- 238.- YASUDA, Y. et al . (1974) . Embryotoxic effects of feeding bracken fern (Pteridium aquilinum) to pregnant mice. TOXICOL. APPLIED PHARMACOLOGY 28(2): 264-268.
- 239.- YOSHIRA, K. et al . (1971) . I- Indanone Derivatives from bracken, Pteridium aquilinum, var. Latusculum. CHEM. PHARM. BULL. (TOKYO) 19(7): 1941-1945.
- 240.- YOSHIRA, K. et al . (1978) . Chemical and toxicological studies of bracken fern Pteridium aquilinum var. Latusculum, Part I. Introduction, Extraction and fractionation of constituents and toxicological studies including carcinogenicity test. CHEM. PHARM. BULL. (TOKYO). 26(8): 2346-2364.
- 241.- ZOULA, P.Z. and MAY, B.Z. (1958) . New absorption peak of tyrosine. SCIENCE 127: 1055-1056.
- 242.- ZWOELFER, H. (1973) . Possibilities and limitations in Biological Control of Weeds. OEPP/EPPB BULL. 3(3): 19-30.

APENDICE DE METODOS ESTADISTICOS

APENDICE DE METODOS ESTADISTICOS

Intervalos de confianza para el Coeficiente de Variación

En las curvas que definen el cambio del Coeficiente de Variación ( C. V. ), con respecto al tamaño de muestra utilizando para su estimación, se indican los valores del intervalo de confianza ' t ' al 95 % . Para su determinación se utilizó el valor del error estándar del c.v. ,  $S_{c.v.}$  , ( Sokal, 1969 ) que es igual a

$$S_{c.v.} = \frac{C. V.}{2 \sqrt{n}} \quad , \text{ si } c.v. < 15\% \text{ ó bien}$$

$$S_{c.v.} = \frac{C. V.}{2 \sqrt{n}} \sqrt{1 + 2 \left( \frac{c.v.}{100} \right)^2} \quad ,$$

si  $c.v. > 15\%$

De tal manera que

$$P \left\{ C.V. - t_{\alpha/2} S_{c.v.} \leq C.V. \leq C.V. + t_{\alpha/2} S_{c.v.} \right\} = 1 - \alpha = 0.95$$

Donde  $C.V. _p$  es el Coeficiente de Variación paramétrico .

### Prueba de Normalidad

Se enfatizarán dos tipos de desviaciones de la normalidad :

Una es el Sesgo o asimetría, que significan que existen más mediciones cerca de los extremos de la distribución. Puede haber sesgo a la izquierda o a la derecha, dependiendo cual sea el extremo que posea el exceso de mediciones, con respecto a una distribución normal .

El otro tipo de desviación de la normalidad es la Curtosis . Una distribución Leptocúrtica posee más mediciones cerca del promedio y a los extremos ( colas ) . Una curva Platicúrtica tiene menos mediciones cerca del promedio y en las colas que una curva normal, pero más en las regiones intermedias . Una distribución bimodal es una curva extremadamente platicúrtica

Los estadísticos muestrales para la estimación del sesgo y la curtosis se denominan "  $g_1$  " y "  $g_2$  " , que estiman a los valores poblacionales  $\gamma_1$  y  $\gamma_2$  .

Las fórmulas para  $g_1$  y  $g_2$  son llamados estadísticos de momentos. Un momento central de orden 'r' , en Estadística como en Física, es  $(1/n) \sum (y - \bar{y})^r$  , o sea el promedio de todas las desviaciones en todas las mediciones con respecto al promedio, elevadas a la potencia " r " .

El primer momento central,  $(1/n) \sum (y - \bar{y})$  , es siempre igual al cero,

El segundo momento,  $(1/n) \sum (y - \bar{y})^2$  , es la varianza.

$g_1$  es el tercer momento dividido entre el cubo de la desviación estandar :

$$\left( 1 / n s^3 \right) \sum ( y - \bar{y} )^3$$

$g_2$  es el cuarto momento dividido por la desviación estandar a la cuarta potencia menos tres :

$$\left( 1 / n s^4 \right) \sum ( y - \bar{y} )^4 - 3$$

En una distribución normal,  $\gamma_1$  y  $\gamma_2$ , son ambos igual a cero .

Un valor negativo de  $g_1$  indica sesgo a la izquierda,

Un valor positivo de  $g_1$  indica sesgo a la derecha .

Un valor negativo de  $g_2$  indica platicurtosis,

Un valor positivo de  $g_2$  indica leptocurtosis .

El valor absoluto de  $g_1$  ó de  $g_2$ , por sí mismo no significa mucho, estos deben ser contrastados estadísticamente para saber algo acerca de su significación .

#### Prueba de significancia para un estadístico $g_1$ y $g_2$

La prueba "t" es empleada en este caso, con los grados de libertad adecuados. Al probar la significación del estadístico  $g_1$ , probamos si la desviación del valor  $g_1$  difiere significativamente del valor  $\gamma_1$  de una población normal.

Varios coeficientes como  $g_1$ ,  $g_2$ , coeficientes de regresión o coeficientes de correlación pueden ser probados de esta manera .

Para efectuar la contrastación :

1.- El valor de  $t_{g_i}$  se calcula de la siguiente forma :

$$t_{g_i} = \frac{g_i - \gamma_i}{S_{st}}$$

En la fórmula anterior,

$g_i$  es el estadístico muestral,

$\gamma_i$  es el valor paramétrico con respecto al cual la significación será probada, y

$S_{st}$  es el error estandar estimado,

En el caso de los valores  $g_1$  y  $g_2$  tenemos :

$$S_{g_1} = \sqrt{\frac{6n(n-1)}{(n+2)(n+1)(n+3)}} \quad , \text{ y}$$

$$S_{g_2} = \sqrt{\frac{24n(n-1)^2}{(n-3)(n-2)(n+3)(n+5)}}$$

En ambos casos los grados de libertad pertinentes son igual al infinito .

2.- Las hipótesis a considerar, en el caso de la prueba a dos colas :

$$H_0 : g_i = \gamma_i \quad ; \quad H_1 : g_i > \gamma_i$$

$$\text{ó bien } H_1 : g_i < \checkmark_i$$

3.- En el caso de la prueba a dos colas, se utiliza el valor crítico de  $t_{\alpha/2}[\checkmark]$ , donde  $\alpha$  es el error tipo I y  $\checkmark$  son los grados de libertad utilizados en las estimaciones del error estándar.

### Prueba de $\chi^2$ para diferencias entre proporciones

Si los valores  $x_1, x_2, \dots, x_n$  son los valores observados de un conjunto de variables aleatorias independientes que tienen distribuciones binomiales caracterizadas por los parámetros  $n_i$  y  $\theta_i$  tal que  $i = 1, 2, 3, \dots, k$ .

El valor del estadístico  $\chi^2$  puede ser usado para probar la hipótesis nula

$$H_0 : \theta_1 = \theta_2 = \theta_3 = \dots = \theta_k$$

El estadístico  $\chi^2$  se distribuye como una  $\chi^2$  cuadrada con  $k - 1$  grados de libertad.

El valor del estadístico  $\chi^2$  está dado por la ecuación :

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(x_i - n_i \theta)^2}{n_i \theta (1 - \theta)} = \sum_{i=1}^k n_i \left[ \frac{1}{\sum_{i=1}^k x_i} \sum_{i=1}^k \frac{x_i^2}{n_i} + \frac{1}{\sum_{i=1}^k (n_i - x_i)} \sum_{i=1}^k \frac{(n_i - x_i)^2}{n_i} - 1 \right]$$

Donde

$$\hat{\theta} = \frac{\sum_{i=1}^k x_i}{\sum_{i=1}^k n_i}$$

Referencias : Hewlett - Packard HP - 41c . User's Library Solutions,  
Test Statistics .

Freund, J. Mathematical Statistics, Prentice - Hall, 1971.

### Prueba de Kruskal - Wallis

Esta prueba permite probar la hipótesis nula que  $k$  muestras aleatorias independientes de tamaños de muestra  $n_1, n_2, \dots, n_k$  provienen de poblaciones continuas idénticas.

Para efectuar esta prueba, los datos de las  $k$  muestras se arreglan simultáneamente en orden creciente de magnitud.

Se define al rango de un valor  $j$  de la muestra  $i$  como  $R_{ij}$ , tal que  $j = 1, 2, \dots, n_i$  'y'  $i = 1, 2, \dots, k$

El valor del estadístico  $H$  permite probar la hipótesis nula,  $H_0$ , de Kruskal - Wallis.

Cuando todos los tamaños de muestra son grandes ( $n > 5$ ), el estadístico  $H$  se distribuye aproximadamente como  $J_1^2$  cuadrada con  $k - 1$  grados de libertad.

El valor del estadístico  $H$  está dado por la ecuación

$$H = \frac{12}{n(n+1)} \sum_{i=1}^k \frac{\left( \sum_{j=1}^{n_i} R_{ij} \right)^2}{n_i} - 3(n+1)$$

Donde

$$n = \sum_{i=1}^k n_i$$

Para corregir a un valor  $H$  de Kruskal - Wallis por la presencia de datos repetidos, se utiliza el valor 'D', definido

por la ecuación

$$D = 1 - \sum T_j \left[ \left( \sum n_n - 1 \right) \sum n_n \left( \sum n_n + 1 \right) \right]^{-1}$$

En la ecuación anterior

$$T_j = t_j^3 - t_j - (t_j - 1) t_j (t_j + 1)$$

$t_j$  es el número de datos repetidos en el grupo "j",

'a' es el número de grupos, y

' $n_n$ ' es el número de datos del grupo 'n'

El valor H se ajusta por datos repetidos

$$H' = \frac{H}{D}$$

Si el valor de  $H'$  es mayor que el valor crítico  $X^2$  no se puede aceptar la hipótesis nula.

Para pruebas con  $\alpha = 0.10$  ó  $\alpha = 0.05$ , la aproximación del estadístico H a  $X^2$  es muy buena, aun cuando n sea tan pequeño como 5.

Sin embargo, para  $\alpha = 0.01$ , la prueba debe ser considerada con reserva para pequeños valores de n.

Con esta prueba son rechazados menos del 1.0 % de las pruebas cuando H o es verdadera. Cuando a = 3 y cada una de las n tiene un valor menor que 5, es estadístico H no se

distribuye como  $\chi^2$  cuadrada .

Referencias : Sokal, 1969 . ; Hewlett - Packard HP - 41C , User's  
Library Solutions. Test Statistics . ; Conover, W. J.  
Practical Nonparametrics Statistics, John Wiley, 1971 .

Prueba de 'U' de Mann - Whitney

Esta prueba produce los mismos resultados que la prueba para dos muestras de Wilcoxon ( Sokal, 1969 ) .

Ambas son pruebas no paramétricas para solamente dos muestras. La hipótesis nula,  $H_0$ , que se somete a contrastación es que no existe diferencia en los rangos de las dos poblaciones muestreadas. Las dos muestras independientes pueden ser de diferente tamaño.

El valor del estadístico de prueba,  $U$ , de Mann - Whitney se define por la expresión :

$$U = n_1 n_2 + \frac{n_1 ( n_1 + 1 )}{2} - \sum_{i=1}^{n_1} R_i$$

donde  $n_1$  y  $n_2$  son los tamaños de muestra de las dos muestras .

Los datos de las dos muestras se arreglan simultáneamente como si se tratara de una sola muestra, en un orden de magnitud creciente, y a cada dato se le asigna un rango,  $R_i$ , dependiendo de su localización en el arreglo.

Si  $R_i$  (  $i = 1, 2, \dots, n_1$  ) , son los rangos asignados a los datos de la 'primera' muestra, sin importar cual de las dos muestras es considerada como la 'primera', la suma de ellos

será el valor del tercer miembro de la ecuación para determinar el valor del estadístico ' U ' .

Cuando los valores de ambas muestras,  $n_1$  y  $n_2$  , son pequeños, la prueba de Mann - Whitney se basa en los valores de la distribución del estadístico ' U ' . Cuando  $n_1$  y  $n_2$  son ambas grandes , i.e. por ejemplo, mayores o iguales a ocho datos, se puede recurrir a los valores del estadístico ' Z ' .

El valor del estadístico ' Z ' está dado por la expresión :

$$Z = \frac{U - \frac{n_1 n_2}{2}}{\sqrt{\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 + 1)}{12}}}$$

Los valores de esta expresión, son aproximadamente los de una variable aleatoria, que tienen una distribución normal estandarizada. Así, podemos referirnos a una tabla t ( Tabla Q, Rohlf, 1969. p.c.159) usando las probabilidades a una o dos colas, dependiendo de la hipótesis . Se deben utilizar valores  $t_{\alpha/2}$  .

La corrección para datos repetidos ( se requiere un número apreciable de éstos para modificar apreciablemente el valor Z ) , incrementa el valor de Z ligeramente. Por ésta razón, resulta más adecuado utilizar la fórmula para Z sin corregir .

Si se considera necesario hacer correcciones por valores comunes, consultar : Sokal y Rohlf (1969) p.c. 394 .

Prueba de  $X^2$  de Bartlett para homogeneidad  
de varianzas

En la expresión :

$$X^2 = \frac{f \ln s^2 - \sum_{i=1}^k f_i \ln s_i^2}{1 + \frac{1}{3(k-1)} \left| \left( \sum_{i=1}^k \frac{1}{f_i} \right) - \frac{1}{f} \right|}$$

Donde :

$s_i^2$  = varianza de la muestra ' i ' ,

$f_i$  = grados de libertad asociados a  $s_i^2$  ,

$i = 1, 2, \dots, k$

$k$  = número de muestras

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^k f_i s_i^2}{f} \quad , y$$

$$f = \sum_{i=1}^k f_i$$

El valor del estadístico  $X^2$  se distribuye aproximadamente como una Ji cuadrada con  $k - 1$  grados de libertad. Puede ser usado para probar la hipótesis nula que  $s_1^2, s_2^2, \dots, s_k^2$  son todas estimaciones de la misma varianza paramétrica,  $\sigma^2$ , i.e. cada una de las  $s_i^2$  son estimaciones de una sola  $\sigma^2$ .

Referencias : Hewlett - Packard HP - 41C, User's Library Solutions,  
A. Hald, John Wiley and Sons, 1960 .

Separación de Medias por Diferencia Significativa Mínima ( Little, 1979 )

Esta prueba no debe utilizarse a menos que la prueba F sea significativa. La diferencia significativa mínima ( DSM ) solo debe emplearse para comparar medias adyacentes en un arreglo ordenado.

Cuando la DSM se usa indiscriminadamente para probar todas las posibles diferencias entre medias, algunas serán significativas, pero el valor especificado para el nivel de confianza será mayor, i.e. en vez de efectuarse al nivel de 5 % , las comparaciones entre medias con una separación mayor que dos en un arreglo, se realizarán a un nivel de significación más bajo.

La DSM puede utilizarse para comparar medias adyacentes y sólo esta forma es la más adecuada o bien compararlas con respecto a un tratamiento-estandar ( Little, 1979 ) .

La DSM es fácil de calcular y se dispone de un sólo estimador para efectuar las comparaciones . La DSM es una forma de prueba T . Su fórmula se deriva de la de t en la prueba de significación para la diferencia entre dos medias y su valor está dado por la ecuación :

$$DSM = t \sqrt{\frac{2 s^2}{r}}$$

Donde  $s^2$  es el Cuadrado Medio del Error obtenido de ANOVA ;

' r ' es el número de repeticiones y ' t ' es el valor tabulado al nivel de confianza '  $\alpha$  ' dado para los grados de libertad del error.