

ANALES DE EDAFOLOGIA Y FISILOGIA VEGETAL

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

Anal. Edaf. Tomo XV. Número 6. Págs. 417-500

Madrid, junio 1956

ANALES DE EDAFOLOGIA Y FISILOGIA VEGETAL

Publicados por el INSTITUTO DE EDAFOLOGIA Y FISILOGIA VEGETAL del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, con la colaboración de:

Estación Experimental de Aula Dei. Zaragoza.	Laboratorio de Caminos de la Escuela Especial de Ingenieros de Caminos.
Instituto de Aclimatación. Almería.	Misión Biológica de Galicia. Pontevedra.
Instituto de Biología del Tabaco. Sevilla.	Sociedad Española de Ciencia del Suelo.
Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas.	Sociedad Española de Mecánica del Suelo y Cimentaciones.

Ejemplar.....	20 pesetas
Suscripción anual (doce números) ..	160 »

Toda la correspondencia a

ANALES DE EDAFOLOGIA Y FISILOGIA VEGETAL
Serrano, 113. Madrid (España).

TOMO XV

NÚMERO 6

SUMARIO

	<u>Páginas</u>
Transformaciones en minerales de la arcilla observadas con el microscopio electrónico, por <i>Juan J. Alonso Pascual</i>	417
Sobre las volumetrías interferométricas y sus aplicaciones, por <i>F. Burriel Martí</i> y <i>M. Claver Aliod</i>	421
La reducción del podrido de la naranja mediante los tratamientos con bórax, bórax-ácido bórico y ortofenilfenato sódico-urotropina, por <i>Benito Orihuel</i> y <i>José Merí</i>	439
Medio selectivo para orientar la identificación de algunas bacterias fitopatógenas y en especial del <i>Pseudomonas savastanoi</i> , por <i>R. Vicente Jordana</i> y <i>R. Beltrá</i>	493
INFORMACION	
NOTAS.—Estancia del Prof. Arnón.—Pensionado.—«Revista del Frío»...	497
BIBLIOGRAFIA	
<i>F. Burriel Martí</i> y <i>J. Ramírez Muñoz</i> : Fotometría de llama	499

TRANSFORMACIONES EN MINERALES DE LA ARCI- LLA OBSERVADAS CON EL MICROSCOPIO ELECTRONICO (*)

por

JUAN J. ALONSÓ PASCUAL

Damos cuenta de dos tipos de transformación que hemos tenido ocasión de ver en nuestros estudios con el microscopio electrónico. La primera, observada en un Rotlehm sobre Buntsandstein, y la otra en areniscas paleógenas de la Rioja, (trabajos en publicación).

En el primer caso observamos repetidas veces un mineral de tipo laminar descomponiéndose en nontronita. Como en la fotografía n.º 1 se aprecia claramente, las formas bastónales de las nontronitas quedan paralelas entre sí, ordenadas conforme a una dirección dominante de alteración en el mineral origen. Sobre la naturaleza de este último no es posible pronunciarse, pues si bien en la mayoría de los casos parece micáceo, en la antedicha fotografía, en su ángulo inferior derecho, se aprecian tres caras de una pequeña caolinita con las formas nontroníticas completando el cristal.

En los materiales de la Rioja la reacción es más clara todavía, y quizás por ello más interesante. Conforme a lo indicado en el estudio de M. Vivaldi y Cano Ruiz (1), hemos podido fotografiar la transformación de vermiculita en sepiolita.

(*) El presente trabajo fué presentado a la III Reunión Internacional sobre Reactividad de los Sólidos, en su Sección 3.^a

(1) J. L. MARTÍN VIVALDI y J. CANO RUIZ, Contribución al estudio de la Sepiolita. Anal. Edaf.; Tomo XII, n.º 11.—1953. Madrid.

También en este caso el paso de una a otra especie mineral se hace según direcciones dominantes, que ordenan las fibras sepiolíticas paralelamente entre sí y formando un ángulo de 60 ó 120 grados, con las originadas sobre distinta cara del cristal de vermiculita, (Fots. 2 y 3).

Aunque parecen ser las capas tetraédricas de sílice las ordenadoras de los nuevos minerales, dejamos para más adelante pronunciarnos sobre el mecanismo de las reacciones.

CONCLUSIONES

1) Se ha visto la transformación de un mineral de tipo laminar en múltiples ejemplares de nontronita, los cuales quedan dispuestos paralelamente entre sí.

2) Se ha observado el paso de vermiculita a sepiolita en materiales sedimentarios.

3) Este cambio se realiza disponiéndose también los ejemplares de sepiolita paralelos entre sí, pero formando ángulo de 60 grados con los originados en otra cara contigua.

4) La estructura del mineral origen influye en la orientación de los transformados y probablemente de él las capas tetraédricas de sílice.

INSTITUTO DE EDAFOLOGÍA Y FISIOLOGÍA VEGETAL
Sección de Petrografía Sedimentaria.

RESUMEN

En materiales rojos de Buntsandstein español, se encontró la transformación de un mineral laminar en nontronita.

En areniscas de la Rioja, pudimos observar el paso de vermiculita a sepiolita.

La transformación se hace ordenada conforme a la estructura del mineral originario.

SUMMARY

In red materials of Spanish Buntsandstein was found the transformation of a laminar mineral in nontronita.

In areniscas of Rioja we could observe the change of vermiculita to sepiolita.

The transformation is made ordinate according to the structure of the original mineral.

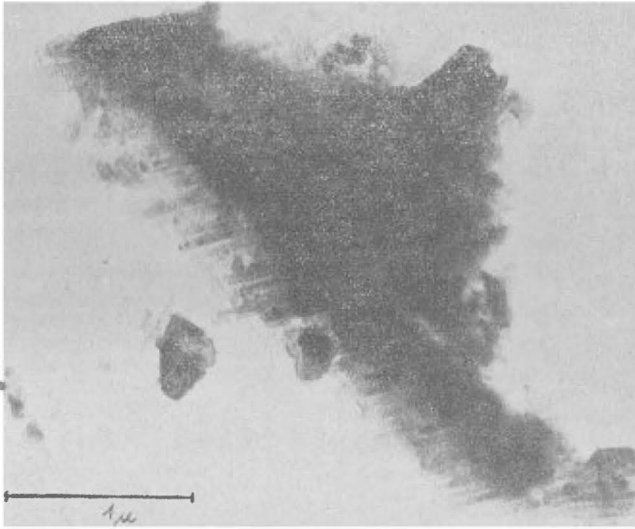


Foto 1

Por 6.000 a 24.000 aumentos.



Foto 2

Por 7.500 a 26.700 aumentos.



Foto 3

Original 7.500; ampliación 20.000.

SOBRE LAS VOLUMETRIAS INTERFEROMETRICAS Y SUS APLICACIONES

por

F. BURRIEL MARTI y M. CLAVER ALIOD

Debido a la gran exactitud con que se puede medir actualmente el índice de refracción n de soluciones mediante técnicas y aparatos refractométricos adecuados, ya es sabida la gran utilidad que dicha medida ha prestado y presta al análisis químico. En efecto, entre las aplicaciones analíticas de la medida de n podemos enumerar las siguientes:

- 1) El análisis estructural de compuestos orgánicos con la medida de su refracción molecular.
- 2) Como excelente criterio de pureza para determinadas sustancias químicas.
- 3) Medida de las variaciones de concentración salina que se producen en determinadas valoraciones volumétricas mediante la medida de las variaciones que se producen de n como consecuencia de aquellos cambios de concentración.
- 4) Estudio analítico de diversas mezclas binarias y ternarias, soluciones acuosas de diversos ácidos, ácidos polibásicos, de alcoholes, mezclas de alcohol-benceno y otros disolventes, reacciones de neutralización, etc.

VOLUMETRÍAS INTERFEROMÉTRICAS

En este trabajo nos proponemos estudiar las variaciones del índice de refracción que experimenta una disolución muy diluida y valorar, al añadirle diversas cantidades de un reactivo apropiado,

para llegar a determinar con estas variaciones el punto de equivalencia de la reacción que ha de servir de base a diferentes tipos de volumetrías; pero en nuestro caso, la medida de las variaciones de n la realizamos por primera vez mediante el refractómetro interferencial de R. Jounard, de la casa A. Jobin y G. Ivon (1).

Este refractómetro interferencial nos permite hacer microdeterminaciones muy rápidas y precisas utilizando cantidades muy pequeñas de las disoluciones, ya que con medio centímetro cúbico se puede hacer una determinación de índice de refracción que se desee medir con una precisión de la sexta cifra decimal.

Con nuestro aparato interferométrico se miden directamente, por desplazamiento de bandas de interferencia (1), la diferencia de índices, que llamamos Δ , de la solución original, y de las diferentes soluciones que se van formando en el transcurso de la volumetría. De esta forma se consiguen determinaciones de puntos de equivalencia muy exactas y rápidas, difíciles de obtener por otros métodos, incluso con los refractómetros más empleados (2).

Como todo refractómetro diferencial, presenta la ventaja de poder prescindir de la temperatura a que se hacen las determinaciones, y con este motivo se elimina una de las causas más frecuentes de error, que un conocimiento imperfecto de la misma puede introducir en las medidas (3).

Sea e y e' los espesores de dos sustancias cuyos índices sean n y n' respectivamente, el refractómetro interferencial o interferómetro nos determina directamente la dimensión D , diferencia de índices, según la ecuación

$$D = (n - 1)e - (n' - 1)e'$$

De esta fórmula el aparato nos permite medir el valor de D y, por tanto, el de cada una de estas dimensiones n , n' , e ó e' cuando tres de ellas sean conocidas.

(1) Es sabido que la diferencia de concentración de dos medios provoca una diferencia de refracción que cambia la longitud de onda de un rayo con relación a otro, que atraviesan respectivamente ambos medios, haciendo desviar la imagen interferencial.

Cuando los espesores e y e' son iguales, como ocurre en el caso de las cubetas del aparato, la fórmula anterior queda reducida a :

$$D = (n - n') e$$

El interferómetro nos dará, pues, la diferencia de índices $n - n'$ cuando e (espesor de las cubetas) es conocido, y si uno de los índices de las disoluciones, n' , lo conocemos, podemos hallar el valor del índice n .

Por otra parte, si conocemos la diferencia de índices $n - n'$, el aparato nos permitirá conocer el valor común e , para hacer el calibrado de sus cubetas.

APARATO UTILIZADO

El esquema del aparato utilizado es el siguiente (fig. 1) : B, es una hendidura muy fina vertical, iluminada por una fuente luminosa A. Esta hendidura B, dará, a través de la lente O, una imagen B', que podemos observar colocando un papel blanco. Colocando en las proximidades de la lente O una pantalla en la cual se han practicado dos hendiduras verticales y muy próximas Y e Y' (rendijas de Young), la imagen B' desaparece y entonces se forma un sistema de franjas de interferencia verticales que ya no se pueden localizar en el plano de B' como sucedía anteriormente, pero sí en el plano V, y ser observadas por el anteojo J.

Por el ócular o anteojo se pueden observar estas franjas en una superficie iluminada apareciendo una franja blanca central y dos franjas negras o muy oscuras simétricas a cada lado de la franja blanca central ; a cada lado de las franjas negras una franja blanca pero menos intensa y simétrica respecto de la franja blanca central, y así sucesivamente, disminuyendo en intensidad a medida que se separan de la franja central.

Las franjas equidistantes de la franja central corresponden a la misma longitud de onda. La distancia de dos franjas consecutivas de interferencia se debe contar entre dos puntos homólogos : se tomará, por ejemplo, la distancia entre el eje de una de

las primeras franjas blancas laterales o bien la distancia entre los ejes de dos franjas negras que limiten la franja blanca central; esta distancia nos da la λ de la luz empleada.

Estas franjas son debidas a la interferencia de dos haces luminosos que atraviesan las hendiduras de Joung. La franja blanca central se produce en una región donde se iguala el camino

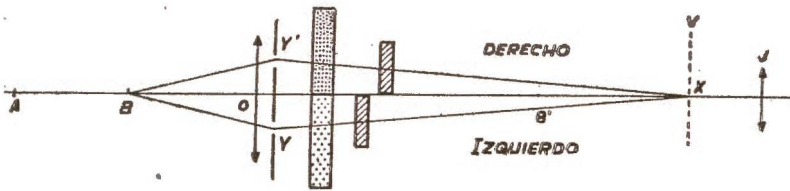


FIG. 1

óptico para estos dos casos; las vibraciones están entonces en concordancia de fase y dan luz; la primera franja blanca de la derecha se produce en una región en que el camino óptico de la izquierda excede al de la derecha en una longitud de onda.

Compensador de Jamin: Para hacer la medida de la diferencia de índices D , se equilibra ésta, por medio de una magnitud análoga Δ , llamada compensación, regulable a voluntad, y que se mide fácilmente por medio de un sistema llamado compensador de Jamin.

El compensador está constituido por dos láminas delgadas de vidrio de caras paralelas del mismo espesor que pueden girar independientemente y formar un ángulo regulable; una de las láminas, y , está atravesada exclusivamente por el haz luminoso de la hendidura Y de la izquierda, y la lámina y' estará atravesada exclusivamente por el haz luminoso de la hendidura Y' de la derecha.

Manejo y calibrado del compensador: El compensador gira alrededor de su eje por el desplazamiento de una varilla, la cual es accionada por un tornillo que gira solidariamente con el círculo graduado, el cual está dividido en grados, y por medio de un vernier se pueden apreciar décimas de grado.

El ángulo que forman las láminas del compensador se puede variar a voluntad, lo cual nos permite apreciar mayores o meno-

res diferencias de índices en los líquidos que se trata de comparar.

Campo de medida: El campo de medida viene representado por la diferencia máxima de índices que se puede medir, la cual depende del espesor de la cubeta y de un parámetro de calibrado u (rotación unitaria), que depende del ángulo que forman las láminas del compensador. La diferencia de índices viene dada por la fórmula

$$n - n' = \frac{\lambda}{e u} R$$

λ , es la longitud de onda de la luz empleada; e , espesor de las cubetas en mm.; u , rotación unitaria en grados. R es el valor de la rotación observada.

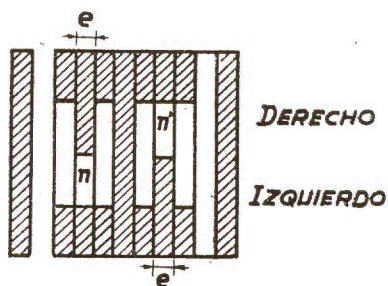


FIG. 2

Para obtener con precisión la sexta cifra decimal es necesario dar al parámetro de calibrado u , un valor de $4^{\circ} 8'$ o sea que el ángulo de las láminas del compensador sea próximo a 12° .

Constitución de las cubetas: Estas presentan la originalidad de que los dos líquidos en lugar de estar colocados en dos células o departamentos en paralelo del mismo espesor y separados por un tabique, se disponen en dos células en serie, y en el interior de las mismas los líquidos cuyos índices se trata de comparar bañan las láminas del mismo espesor e (fig. 2).

Forma de hacer la medida: Una vez que se ha adoptado un cierto ángulo entre las láminas del compensador, según sea la diferencia de índices que se trata de comparar, y conociendo con

exactitud el espesor e de las cubetas (el espesor e , lo hemos comprobado contrastando dos disoluciones de SO_4Zn , previamente purificado al 10 por 100 y 5 por 100, respectivamente, cuya diferencia de índices vale 0,005201, según Bary, valor que coincide exactamente con el número encontrado por nosotros), y la longitud de onda de la luz empleada, se determina el valor cero, o sea $C_n^{n'}$. Para ello se llenan los dos departamentos de la cubeta con el líquido de índice n' , se coloca la cubeta en el aparato y se ilumina con un foco de intensidad constante. Se hace coincidir el eje de la franja blanca central con la división 50 de la escala del micrómetro, para lo cual se hace girar el tornillo de manobra; la lectura en el círculo con nonius, da el valor de $C_n^{n'}$.

Se vacía el departamento de la cubeta, que presenta su lámina interna en el lado de la derecha, se llena éste con el líquido de índice n , y se hace la lectura como la vez anterior, obteniendo un valor $C_n^{n'}$.

En las primeras medidas que hicimos con este aparato observamos cierta irregularidad en las lecturas, motivadas por oscilaciones de la corriente de alimentación, y para evitarlas sustituimos el transformador de corriente por una batería de acumuladores.

El cálculo de la rotación viene dado por la diferencia de las dos lecturas anteriores, $R = C_n^{n'} - C_{n'}^{n'}$. El valor de la rotación multiplicado por $\frac{\lambda}{e u}$ (a), nos da la diferencia de índices:

$$n - n' = \frac{\lambda}{e u} R$$

En la fórmula λ se expresa en $m \mu$, que en nuestro caso, como trabajamos con luz blanca, su valor medio es de $580 m \mu$. El espesor de las cubetas e , expresado en milímetros, es igual a 4,09 mm. El parámetro de calibrado u , y la rotación R , se expresan en grados y décimas de grado. Así, si adoptamos para θ un valor fijo, tal que corresponda para $n=5,2$, el valor obtenido $\frac{\lambda}{e u} = \frac{580}{4,09 \cdot 5,2} = 27,27$, será el factor por el que habrá que multiplicar el valor de la rotación R , obtenida en el aparato para hallar en cada caso la diferencia de índices $n - n'$.

El valor de los índices n y n' vendrá multiplicado por 10^6 , es decir, que viene expresado en unidades del sexto orden decimal.

APLICACIONES A LAS VOLUMETRÍAS

Como antes hemos indicado, este aparato nos sirve para medir muy pequeñas diferencias de índice de refracción de las disoluciones que se desea comparar, y en el presente trabajo tratamos de estudiar la variación que experimenta el índice de refracción de una disolución problema al añadir diferentes cantidades de un apropiado reactivo valorado, comparándola con la disolución problema primitiva. Midiendo, pues, $n - n'$, podemos observar el punto de equivalencia en una valoración volumétrica.

VOLUMETRÍAS DE PRECIPITACIÓN

Primeramente hemos estudiado las aplicaciones a las volumetrías de precipitación en forma semejante a las nefelometrías, solo que aquí se mide las variaciones de n , en la disolución coloidal que se forma (4) (5).

Como volumetrías de precipitación hemos estudiado en primer lugar la reacción del nitrato de plata con el ácido clorhídrico o un cloruro, en nuestro caso utilizamos el cloruro sódico en disoluciones valoradas (6).

En las volumetrías de precipitación de las disoluciones concentradas, o sea normal, décimo normal y centésimo normal para evitar la gelificación del cloruro de plata coloidal formado y con el fin de que permanezca largo tiempo en forma de sol, se le incorpora pequeñas cantidades de disolución de un alcaloide protector (medio centímetro cúbico de disolución de agar-agar al 5 por 100). Pero en nuestro caso y a causa de las concentraciones relativamente grandes de las soluciones N y $\frac{N}{10}$, las diferencias de índices son tan grandes durante la valoración que el interferómetro no puede abarcar dichas variaciones.

De aquí que las aplicaciones más interesantes de nuestro aparato sean para valoraciones de las soluciones más diluídas (7).

En efecto, ya que en las disoluciones $\frac{N}{100}$ de estos reactivos, nitrato de plata y cloruro sódico, las diferencias de índices

entre la solución de cloruro sódico de que se parte y las que se obtienen al añadir a dicha solución de cloruro sódico diferentes cantidades de nitrato de plata, no exceden del valor máximo determinable por el interferómetro, acusando de esta forma y con exactitud el punto de equivalencia de la reacción volumétrica.

Asimismo, en las disoluciones $\frac{N}{1.000}$ de ClNa y de NO_3Ag puede determinarse perfectamente el punto de equivalencia, coincidiendo el número de centímetros cúbicos gastados con los que teóricamente les corresponde.

En las volumetrías de nitrato de plata con yoduro potásico hemos trabajado con disoluciones $\frac{N}{100.000}$ y $\frac{N}{1.000.000}$ con magníficos resultados.

Valoración de Cl' con Ag' : Se parte de una disolución centésimo normal de ClNa y otra de NO_3Ag , perfectamente valoradas, de las cuales se obtienen soluciones más diluídas.

Para estas valoraciones se han empleado buretas y también microburetas, ya que se practica la volumetría con muy pocos centímetros cúbicos.

Primeramente se ha de determinar el valor de C''_n para lo cual se llenan los dos departamentos de la cubeta especial con la disolución problema a valorar, se coloca la cubeta en el interferómetro y una vez iluminada se hace la lectura correspondiente.

Es preciso para estas determinaciones ajustar previamente el ángulo θ , de las láminas del compensador, más conveniente a las variaciones de concentración que se trabaje, y, por tanto, también el valor del parámetro de calibrado u . En muchas valoraciones se ha tomado $u=5,2$, por tanto

$$\frac{\lambda}{e u} = \frac{580}{4,09 \cdot 5,2} = 27,27$$

En este caso sólo ha sido necesario agregar coloide protector a las soluciones de concentración $\frac{N}{100}$. A menor concentración la naturaleza coloidal del precipitado permanece inalterable durante todo el tiempo que dura la valoración.

Para la valoración se toma 10 c. c. (se pueden tomar cantidades mayores) de solución de ClNa $\frac{N}{100}$, $F=0,9980$; se añade

un centímetro cúbico de solución de agar-agar (para los 10 centímetros cúbicos de C1Na) y se determina el valor de C_n'' . Para esta solución $C_n'' = 173,6$.

Después se va agregando poco a poco y agitando la solución valorada de $\text{NO}_3\text{Ag} \frac{N}{100}$ exacta, contenida en la microbureta. De tiempo en tiempo, y después de agregar unas gotas de solución valorada y agitar, se saca con una pipeta medio centímetro cúbico de la solución y se llena el departamento de la derecha (el que tiene la lámina a la derecha) de la cubeta, previamente vaciado, y se hace la lectura correspondiente. Después de cada lectura se retira de la cubeta con una pipeta la solución y se incorpora nuevamente al vaso de reacción.

En realidad, basta hacer unas dos lecturas antes y otras dos después, del punto de equivalencia, para obtener el valor de éste por medio del gráfico respectivo.

T A B L A I

Valoración de una disolución de C1Na $\frac{N}{100}$ con $\text{NO}_3\text{Ag} \frac{N}{100}$

$$C_n'' = 173,6$$

$$\frac{\lambda}{e \cdot n} = 27,27$$

$\text{NO}_3\text{Ag} \frac{N}{100}$	C_n''	R	$n - n'$
c. c.	Lecturas	Valor de rotación	
6	175,3	1,7	0,000047
8	175,5	1,9	0,000051
12	175,35	1,75	0,000047
14	175,0	1,4	0,000038

Con los cuatro valores de las diferencias de índices, como ordenadas, y con los cuatro números correspondientes a las adiciones de NO_3Ag , trazamos en el papel dos rectas y el punto en

que se corten corresponde al punto de equivalencia y al número de centímetros cúbicos de NO_3Ag consumidos en este punto.

Los 10 c. c. de $\text{ClNa} \frac{N}{100}$, $f=0,9980$ equivalen a 9,98 centímetros cúbicos $\frac{N}{100}$ y consumieron, según la gráfica número 3, 10,0 c. c. de $\text{NO}_3\text{Ag} \frac{N}{100}$.

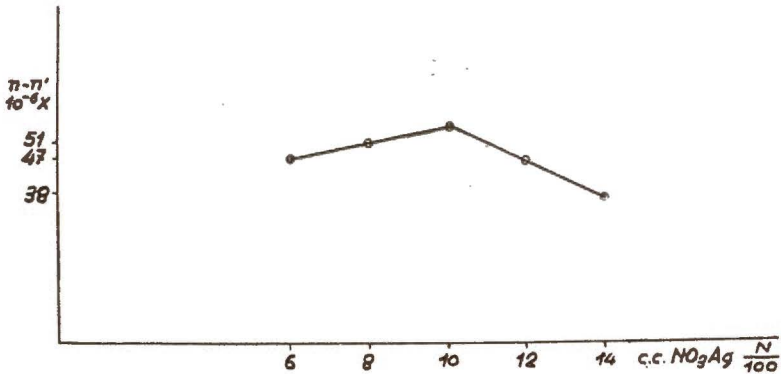


FIG. 3

Valoración de una disolución de $\text{ClNa} \frac{N}{1.000}$ con NO_3Ag de la misma normalidad.

Se toman 10 c. c. de ClNa de $f=0,9980$, que corresponden a 9,98 c. c. de $\text{ClNa} \frac{N}{1.000}$.

TABLA II

$\text{NO}_3\text{Ag} \frac{N}{1.000}$	$C_n^{n'}$	R^-	$n-n'$
c. c.	Lecturas	Valor de rotación	
6	172,5	2,5	0,000068
8	173,4	3,4	0,000092
12	173,8	3,8	0,000103
14	173,15	3,5	0,000095

$$C_{n'}^{n'} = 170,0$$

$$\frac{\lambda}{e \cdot u} = 27,27$$

Según la gráfica núm. 4, los 9,98 c. c. de $\text{ClNa} \frac{N}{1.000}$ consumen en el punto de equivalencia 9,68 c. c. de $\text{NO}_2\text{Ag} \frac{N}{1.000}$.

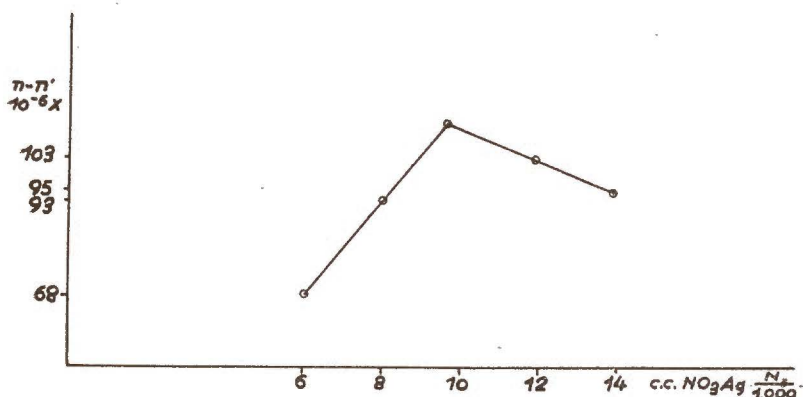


Fig. 4

Valoración de los reactivos anteriores en disoluciones $\frac{N}{10.000}$.

Se toman 10 c. c. de ClNa , que equivalen a 9,98 c. c. de ClNa de esta normalidad.

TABLA III

$$C_{n'}^{n'} = 172,1$$

$$\frac{\lambda}{e \cdot n} = 27,27$$

$\text{NO}_2\text{Ag} \frac{N}{10.000}$	$C_n^{n'}$	R	$n - n'$
c. c.	Lecturas	Valor de rotación	
6	172,6	0,5	0,000013
8	174,2	2,1	0,000057
12	174,3	2,2	0,000059
14	172,8	0,7	0,000019

Según la gráfica núm. 5, los 9,98 c. c. de $\text{ClNa} \frac{\text{N}}{10.000}$ consumen en el punto de equivalencia, 9,80 c. c. de $\text{NO}_3\text{Ag} \frac{\text{N}}{10.000}$

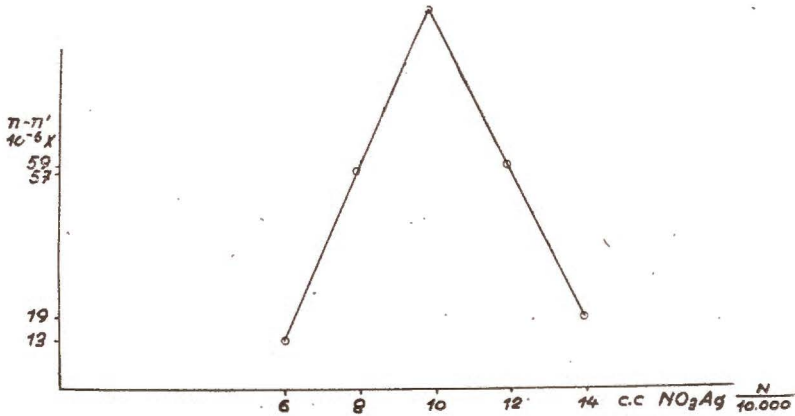


FIG. 5.

Con objeto de estudiar este tipo de volumetrías a mayores diluciones, hemos sustituido las soluciones de ClNa por las de IK para valorarlas con disoluciones de NO_3Ag .

TABLA V

$$C_n^{n'} = 172,0$$

$$\frac{\lambda}{c \cdot u} = 27,27$$

$\text{NO}_3\text{Ag} \frac{\text{N}}{100.000}$	$C_n^{n'}$	R	$n - n'$
c. c.	Lecturas	Valor de rotación	
6	174,2	2,2	0,000059
8	175,0	3,0	0,000081
12	175,3	3,3	0,000089
14	174,5	2,5	0,000068

En la primera valoración de IK empleamos estos reactivos ya en la dilución de $\frac{N}{100\ 000}$ y de $f=0,9959$.

Como anteriormente, tomamos 10 c. c. de la disolución de IK, que multiplicado por su factor equivalen a 9,95 c. c. de esta concentración para valorarla con la disolución de NO_3Ag respectiva.

El valor en el punto cero de C_n' es 172,0 y se hace la valoración como en los casos anteriores con igual valor para θ .

Según la gráfica núm. 6, los 9,95 c. c. de IK $\frac{N}{100.000}$ equivalen a 10,20 c. c. de NO_3Ag $\frac{N}{100.000}$.

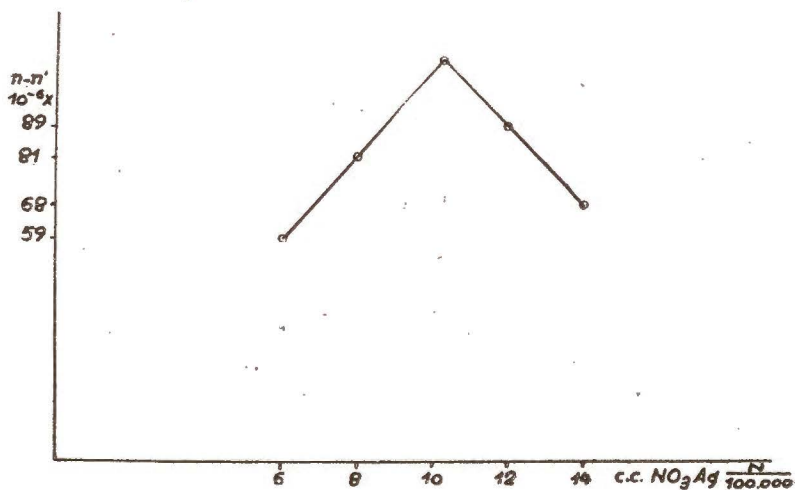


FIG. 6

Valoración de IK $\frac{N}{10^6}$ con NO_3Ag $\frac{N}{10^6}$

En estas últimas valoraciones a tan altas diluciones, no se observa la más mínima precipitación ni turbidez del IK formado, pero, sin embargo, el interferómetro nos acusa perfectamente todas las fases de la volumetría, incluso el punto de equivalencia.

TABLA V

$\text{NO}_3\text{Ag} \frac{\text{N}}{1.000.000}$	$C_n^{n'}$	R	$n - n'$
c. c.	Lecturas	Valor de rotación	
6	174,6	2,4	0,000065
8	175,7	3,5	0,000095
10	176,0	3,8	0,000108
12	174,9	2,7	0,000074
14	174,6	2,4	0,000065

$$C_{n'}^{n'} = 172,2$$

$$\frac{\lambda}{e \cdot u} = 27,27$$

Según la gráfica número 7, los 9,95 c. c. de $\text{IK} \frac{\text{N}}{10^6}$ equivalen a 10 c. c. de $\text{NO}_3\text{Ag} \frac{\text{N}}{10^6}$, tomando como punto de equi-

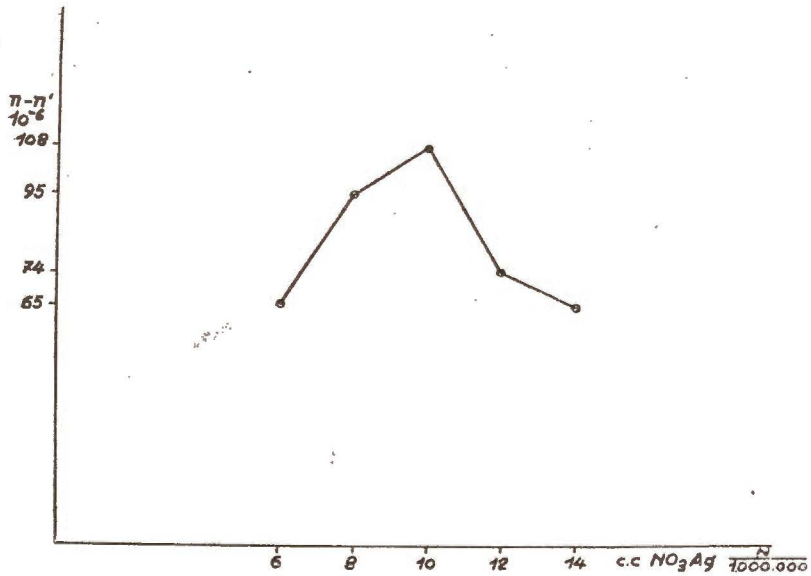


FIG. 7

valencia, en este caso, el punto más elevado de la curva, a causa de las variaciones que se experimentan a tan altas diluciones en los otros puntos.

Aplicaciones a la valoración de CINa de un suelo

Como aplicación práctica de estas microvolumetrías tan sensibles, presentamos la determinación cuantitativa del CINa en suelos cultivados, cuyo contenido de esta sal es muy pequeño.

De los diferentes análisis de suelos realizados por nosotros a continuación expresamos los resultados obtenidos con la muestra de suelo cultivado 5-111.

Se tomaron 4,9150 gr. de este suelo, se calcina para destruir la materia orgánica; una vez frío se trata por 100 c. c. de agua bidestilada y se lleva al aparato de agitación mecánica durante dos horas, se deja sedimentar una noche y se filtra.

Se toman 10 c. c. del líquido filtrado, se precipitan los hidróxidos con NH_3 , se filtra y la disolución se evapora a sequedad para eliminar el amoníaco. El residuo se disuelve en 10 centímetros cúbicos de agua bidestilada, quedando la disolución dispuesta para hacer la volumetría.

Se hace la lectura del cero, que en este caso es $C_{n'}^{n'} = 170,6$, y se le añade con una microbureta cantidades de $\text{NO}_3\text{Ag} \frac{\text{N}}{100}$ de $f = 1,00$.

$\text{NO}_3\text{Ag} \frac{\text{N}}{100}$	Lecturas	Rotación	$n - n'$
c. c. Añadidos			
0,1	169,4	1,2	0,000032
0,1	169,0	1,6	0,000043
0,1	168,4	2,2	0,000059
0,1	169,6	1,0	0,000027

El máximo 0,000059 corresponde a los 0,3 c. c. de nitrato de plata $\frac{N}{100}$, añadidos a los 10 c. c. de disolución (para 0,4915 gramos de suelo), que equivalen a 0,0216 gr. de Cl' por 100.

Expresado en p. p. m. de ClNa, equivalen a 358,6, valor que concuerda con la que da el análisis de 360 partes por millón.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos al aplicar el método interferométrico como indicador del punto de equivalencia, en las volumetrías de precipitación, se deduce una gran sensibilidad para este método, ya que nos acusa el punto de equivalencia en valoraciones con soluciones tan diluídas que con otros indicadores del punto final sería difícil obtener.

b) Este método es aplicable a soluciones coloreadas en las que no sería posible el empleo de un indicador apropiado.

c) A pesar de la constancia en el punto de viraje obtenido con las mismas disoluciones y realizadas en las mismas condiciones, y asimismo presentar las curvas las mismas características, a igualdad de centímetros cúbicos, agregados, los números que representan la diferencia de índices, no coinciden en todas las curvas estudiadas por nosotros.

d) Se obtiene en todos los casos una gran reproducibilidad.

e) Es condición fundamental para obtener buenos resultados operar con una corriente de alimentación muy constante durante el tiempo que dure la valoración.

Con el método que estudiamos se pueden hacer valoraciones microvolumétricas, dada la pequeña cantidad de líquido problema que se necesita en la determinación del punto de equivalencia (0,5 c. c.), así como por los buenos resultados obtenidos para grandes diluciones, incluso del orden de $\frac{N}{10^6}$ en la valoración del IK.

RESUMEN

En este trabajo se hace una aplicación del refractómetro interferencial de R. Jounard para la determinación del punto de equivalencia en las volumetrías. Se hace un estudio de las volumetrías de precipitación empleando ClNa , a diferentes concentraciones hasta llegar a soluciones $\frac{N}{10^4}$ y con IK hasta soluciones $\frac{N}{10^5}$ y $\frac{N}{10^6}$. Se hace una aplicación de la valoración de Cl' en suelos.

SUMMARY

In this work we make an application of R. Jounard's interferential refractometre for the determination of the point of equivalence in volumetries. We make a study of the precipitation volumetries with the use of NaCl in different concentration arriving to $\frac{N}{10^4}$ solution, and with KI up to concentrations $\frac{N}{10^5}$ and $\frac{N}{10^6}$.

There is also an application made of the Cl' valuation in soils. and $\frac{N}{10^6}$.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) JOBIN, A y YVON, G. 1939. Refractometre Interferentiel. 4.
- (2) WELLS, P. V. 1927. Chem. Review., 3, 331.
- (3) HIRSCH, P. 1926. Interferometrie. Abderhalden: Arbrietsmethoden II, T. 2, H. 1, 737 bis 774.
- (4) HOBART, H., WILLARD, PH. D., LYNNE, L., MERRITT, JR., PH. D. and JOHN A. DEAN, PH. D. 1949). Instrumental Methods of Analysis. 31.
- (5) KALER, F. 1918. Ind. Eng. Chem., 10, 555.
- (6) CAMPO, A. DEL, BURRIEL, F. y GARCÍA ESCOLÁ, L.: 1939. Nuevos métodos de valoración fotoeléctrica (nota II). Anal. Soc. Esp. de Física y Química, t. XXXV, 41.
- (7) SNELL, F. y SNELL, C. 1948. Colorimetric Methods of Analysis, vol. I, 119.

LA REDUCCION DEL PODRIDO DE LA NARANJA MEDIANTE LOS TRATAMIENTOS CON BORAX, BO- RAX-ACIDO BORICO Y ORTOFENILFENATO SODICO-UROTOPINA

por

BENITO ORIHUEL y José MERI

INTRODUCCIÓN

Es indudable que España ha venido figurando siempre como el primer país exportador de naranja del mundo o entre los primeros, y que esta fruta constituye la partida más importante de su comercio de exportación (1). Debe, por tanto, prestarse la máxima atención a todos los problemas con ella relacionados y, especialmente, al de su podrido, cuestión latente en todas las áreas cítricas del mundo, por las pérdidas que se ocasionan en el transcurso del tiempo que media entre su recolección y consumo.

Ya en el año 1928, Barker (2) señalaba que el podrido por moho verde causaba serias pérdidas en las naranjas de varios países, entre ellos España.

El presente trabajo ha sido motivado por la gravedad que dicho problema reviste en nuestro país, a causa del manifiesto estado de atraso en que todavía nos encontramos frente a otros países competidores del cinturón cítrico (tales como Palestina y Norteamérica), tanto en la manipulación de la fruta, como en la aplicación de los modernos métodos antisépticos para evitar su podrido (3).

Puede dar una idea de la magnitud del problema el hecho, ocurrido en temporadas anteriores, de verse desvalorizada una de nuestras más apreciadas variedades tempranas, la Washington-Navel,

por llegar a los mercados en «mala condición», lo que motivó se dijera sobre esta variedad «que no tenía viaje». Sin embargo, no debemos olvidar que, posiblemente, la acción de la *Ceratitis capitata*—mosca del Mediterráneo—también fué, en parte, la causa de esta «mala condición».

Por las razones señaladas se ha considerado podría ser de interés el estudio comparativo de los modernos tratamientos fungicidas sobre algunas de nuestras variedades. En este trabajo preliminar, y en dos experiencias diferentes, se estudian:

- 1) El efecto que en relación con el control del podrido de las variedades Comuna y Doblefina tienen los tratamientos aplicados.
- 2) Las especies de moho causantes del podrido y la frecuencia con que éstas se presentan.
- 3) La resistencia que ofrecen al podrido, comparativamente, ambas variedades en las condiciones experimentales de almacenaje que se señalarán.

En bien de nuestra economía, sería de desear que el comerciante exportador no viviese casi al margen de los resultados que le brinda la investigación científica en lo referente al problema que nos ocupa; sino que viese en ella un auxiliar poderoso para la buena marcha de su negocio de exportación.

Este desconocimiento del problema explica que en estos últimos años, se haya exagerado la importancia de los fungicidas preventivos contra el podrido, sin tener en cuenta que ya desde los trabajos que hicieron Powel y sus colaboradores en California, publicados en 1908 (4), se reconoce que el papel de estos productos químicos es complementario en casos como el nuestro, de podrido blando producido principalmente por los mohos verde y azul (5) (*).

Fundamentalmente, aparte de efectuar la recolección cuando el fruto está completamente seco, debieran tenerse en cuenta los siguientes principios:

(*) Después de días lluviosos también se suele presentar el podrido llamado por los exportadores *aviat* (aguado). Este podrido marrón—brown rot—ya fué citado en 1931, por H. S. Fawcett, como producido por los hongos *Phytophthora citrophthora* y *P. parasitica* (Fawcett, H. S. 1931. Observations on citrus conditions in Mediterranean countries. Spain. California Citrograph 16: 154,157).

1.º Manejo cuidadoso de la fruta, evitando en todo momento—durante la recolección, transporte al almacén y operaciones de confección—las lesiones en su epidermis por las que luego penetrará la espora ocasionando más tarde el podrido, cuando las condiciones de temperatura y humedad favorezcan su germinación (6, 7, 8, 9, 10 y 11).

Contribuiría a su remedio la introducción en nuestro país, tal como preconiza R. Font de Mora, del uso de bolsas de recolección, así como, en términos generales, una manipulación cuidadosa de la fruta (12).

En ausencia de lesión epidérmica, y tan sólo por contacto de un fruto ya atacado con otros sanos, puede transmitirse el podrido, sobre todo en el caso del moho azul, llamado precisamente por esta razón «moho azul de contacto».

2.º Mantenimiento de una concentración muy baja en esporas, tanto en el aire del almacén como en todo el equipo de confección. Naturalmente que los cajones de campo con los que se efectúa la recolección deben también estar libres de esporas. Todo esto exige desinfecciones periódicas de almacén y maquinaria.

A este respecto debemos citar que ha sido puesta de manifiesto (13 y 14) la existencia de una correlación entre el número de esporas sobre el fruto y la cantidad de podrido.

Klotz y Fawcett (11) señalan que el porcentaje de podrido que se desarrolla es directamente proporcional a la concentración de esporas en el aire y en la superficie del equipo. Recomiendan efectuar las operaciones de embalado en secciones aparte, a fin de evitar en lo posible, en las mismas, la presencia de esporas.

También señalan que algunas empresas reducen el podrido desinfectando los almacenes al iniciar la campaña con gas cloro o pulverizando finamente todas las superficies con emulsión de aceite de pino o con los modernos compuestos de amonio cuaternario.

En general, en nuestro país, no es corriente el uso de guantes en la recolección ni en los almacenes de confección, golpeándose, además, excesivamente la fruta (3). Puede esto observarse en las fotografías adjuntas, tomadas durante la campaña 54-55 (fotos 1-3).

Las esporas de los mohos suelen infectar cajones de campo, ce-

pillos de las máquinas de abrillantar, paja (en los sitios donde aún se utiliza), maquinaria en general, etc.; y, salvo contadas excepciones, es muy raro que durante la campaña se efectúen desinfecciones periódicas de almacén y maquinaria.

Trabajando en tales condiciones, no resulta muy aventurado afirmar que en el manejo de las naranjas de piel más blanda, como es el caso de la Washington-Navel, se ofrece, tanto durante la recolección como en las operaciones de confección, multitud de ocasiones para que, involuntariamente, tenga lugar una inoculación de esporas.

Es práctica corriente la desinfección de los frutos mediante su inmersión en soluciones apropiadas, mas desgraciadamente no suele preocupar tanto el evitar posibles reinfecciones una vez terminada aquélla.

Ilustramos esta introducción con una serie de fotografías tomadas durante la anterior campaña, en la que pueden verse sobre naranjas Doblefina inoculadas con esporas de *P. italicum* y *P. digitatum*, las fases del desarrollo del podrido causado por estos hongos y la distinta velocidad de propagación del mismo (fotos 4-8).

Sólo nos resta señalar en defensa de esa postura de escéptico adoptada en general por el comerciante exportador frente a la investigación científica, la confusión que durante la campaña de exportación 54-55, ha producido la venta de diferentes productos comerciales destinados a evitar el podrido, acompañada algunas veces de una propaganda pseudocientífica que, al no haberse comprobado de manera suficiente su comportamiento frente al fruto, bajo las variadas condiciones de trabajo reinantes en nuestros almacenes, han ocasionado, en algunos casos, pérdidas de mucha consideración para el exportador.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

A) EMPLEO DE LA ASOCIACIÓN ORTOFENILFENATO SÓDICO-HÉXAMINA

Revisada la mayor parte de la bibliografía existente sobre el tema del podrido de cítricos, centrado nuestro interés en aquellas substancias que se pueden utilizar en disolución acuosa en forma



Foto 1.



Foto 2.



Foto 3.

Algunas fases de la recolección de nuestra naranja.

FOTOS 4-8

Diferentes fases del desarrollo del podrido en seis naranjas de la variedad Doblefina. Las tres naranjas superiores se inocularon con esporas de *P. digitatum* (moho verde) y las inferiores con esporas de *P. italicum* (moho azul). Se mantuvieron a una temperatura media de 21° C. y una humedad de 80-90 %. Fotografiadas varias veces, en los días que se indica, se puso de manifiesto cómo el moho verde se desarrolla a una velocidad muy superior a la del moho azul.

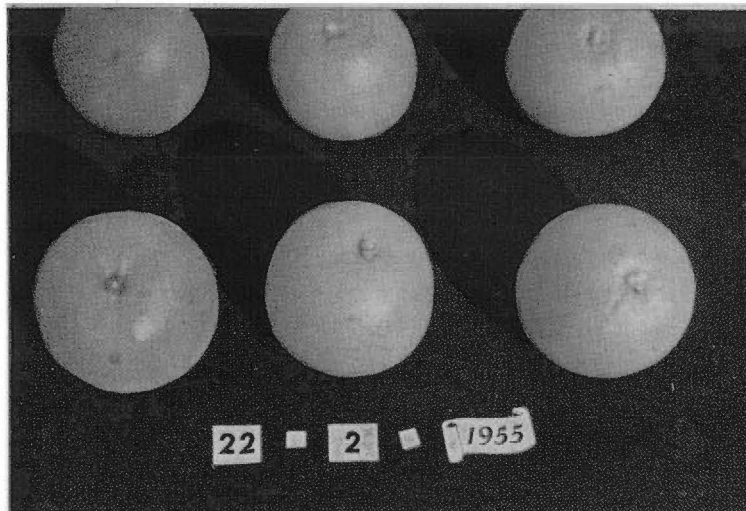


Foto 4.

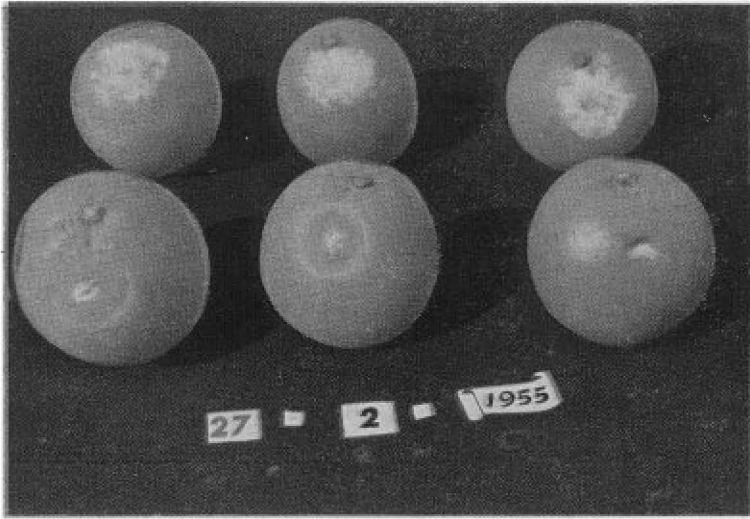


Foto 5.

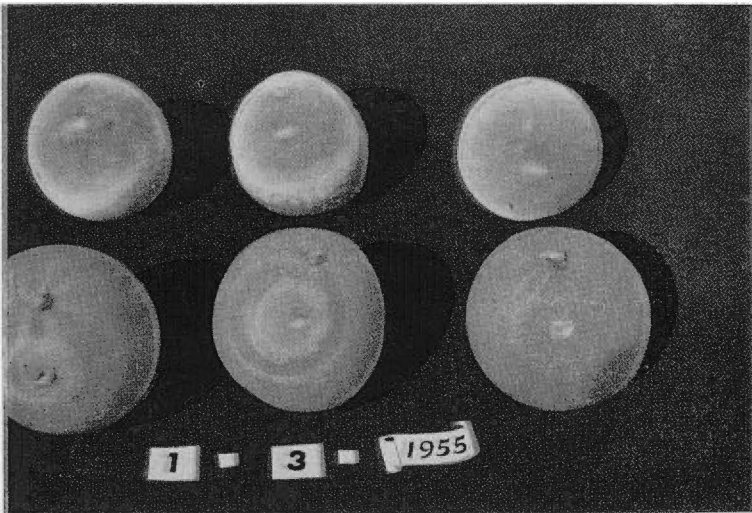


Foto 6.

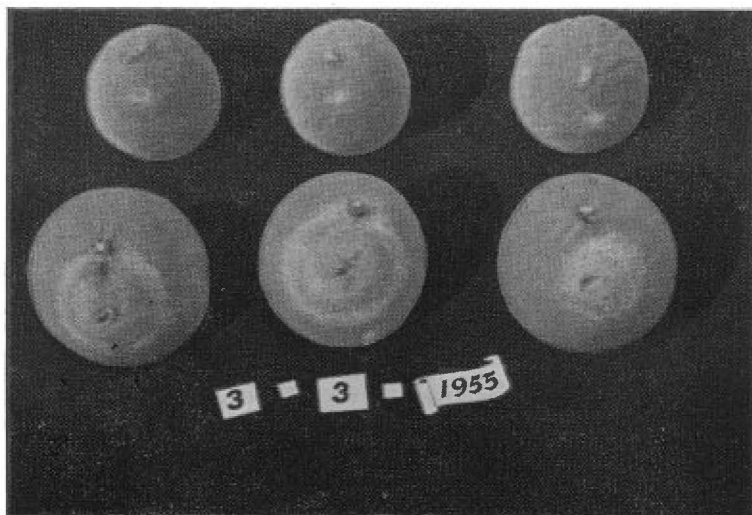


Foto 7.

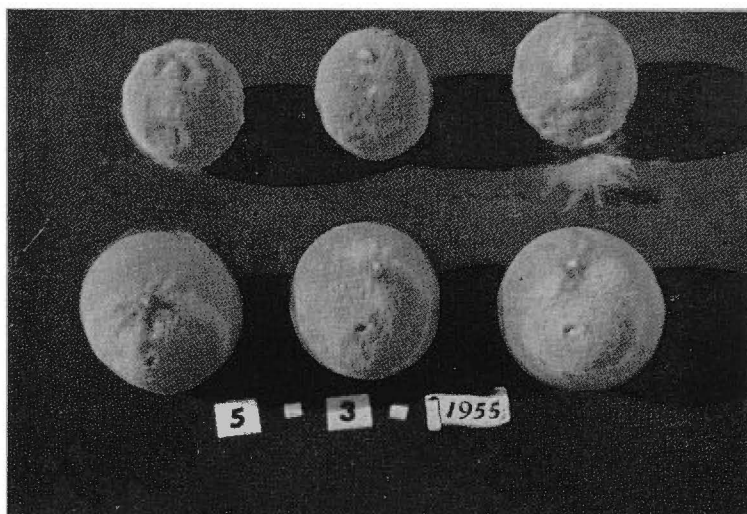


Foto:8.

de baño desinfectante—después de excluir de entre ellas productos tales como la thiourea, que si bien se había revelado como muy eficaz, según se desprende de los resultados obtenidos por los norteamericanos Childs y Siegler (15, 16), el hecho de que penetrando a través de la piel llegue al zumo (15 y 17) en cantidades que ensayos de toxicidad han probado como perjudiciales (18), había ocasionado su prohibición en Norteamérica por la Administración de Drogas y Alimentos del Gobierno Federal—nos quedan como productos más interesantes a ensayar, la asociación ortofenilfenato sódico-hexamina (*), la mezcla de bórax y ácido bórico comerciales y el bórax comercial.

Según Van der Plank y Rattray J. M. (19), la eficacia del ortofenilfenol y de sus sales solubles frente al mocho verde del podrido de cítricos, fué mencionada por primera vez por J. N. Sharma en la patente sudafricana núm. 1.225/35 en el año 1935. Sin embargo, posteriormente, se observó que el ortofenilfenol, aun a baja concentración, producía sobre la piel del fruto una quemadura química, de modo que la aplicación práctica de la mencionada patente quedó reducida al uso del ortofenilfenato sódico, el cual también provoca quemadura química si se emplea a concentraciones superiores a cierto límite. Sharma patentó en Norteamérica el empleo del ortofenilfenato sódico (U. S. pat. 2.054/392).

En el año 1938 Hwang, L. y Klotz, L. J. (20), en California, ensayan el efecto tóxico de varias disoluciones de productos químicos sobre las esporas de los mohos verde y azul, llegando a la conclusión de que a temperaturas inferiores a 37,7° C., el ortofenilfenato sódico se encuentra entre los productos químicos más eficaces por ellos ensayados.

En 1939 y también en Sudáfrica, Van der Plank y Rattray, J. M. (19) efectúan unas experiencias con ortofenilfenato sódico a la concentración de 0,3-0,5 por 100 en la lucha contra el mocho verde, lo-

(*) El Registro de la Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos, el 21 de febrero de 1956, establece una tolerancia de 10 p. p. m. para residuos de ortofenilfenato sódico en o sobre frutos cítricos y calculados como ortofenilfenol. (Use of Dovicide A on citrus fruits approved by U. S. Food and Drug Administration, 1956. Citrus Magazine, May, Vol. 18, n.º 9.)

grando buen control del mismo y sin notar la aparición de quemaduras.

En la marcha de las investigaciones sobre el uso del ortofenilfenato sódico y al intentar lograr un mayor grado de eficacia en su empleo, surge la necesidad de ir dirigiendo la investigación hacia procedimientos que permitan su uso a concentraciones altas y en caliente, sin que exista el peligro de la producción de quemaduras, buscando asociar al ortofenilfenato otra substancia que, sin disminuir su acción fungicida, defienda la piel del fruto contra la formación de aquéllas.

Los primeros que trabajaron en tal sentido fueron los norteamericanos Miller, Winston y Meckstroth (21), ensayando la mezcla de ortofenilfenato sódico y formaldehído. Llegaron a la conclusión de que la dificultad de las quemaduras químicas fué prácticamente superada mediante la adición de una parte en peso de disolución comercial de formaldehído a 4,5 partes de ortofenilfenato sódico.

Godfrey y Ryall, en el año 1948 (22), en un trabajo sobre el podrido de los limones, hacen notar el limitado papel que pueden desempeñar el formaldehído en su empleo para eliminar las quemaduras químicas causadas por el ortofenilfenato sódico.

Winston, en el año 1950 (23), hablando de los tratamientos que por entonces se usaban en Florida, recomienda el uso del ortofenilfenato sódico a la concentración mínima de 0,75 por 100 y máxima de 1,2 por 100, trabajando a temperatura ambiente. Y en cuanto al uso del formaldehído, manifiesta textualmente: «La adición de una parte de formaldehído a 4,5 partes de ortofenilfenato disminuye, pero no elimina el peligro de la formación de quemaduras».

A esta misma conclusión llegaron también, en 1950, Hopkins y Loucks en Florida (24).

Ya en el año 1939, Tomkins en Inglaterra (25), incorpora por primera vez la hexamina al ortofenilfenato sódico, estudiando el empleo de éste como impregnante de los papeles para envolver el fruto. Sin embargo, fueron los norteamericanos Hopkins y Loucks quienes por primera vez emplearon la asociación ortofenilfenato só-

dico y hexamina en baño (26). Posteriormente confirman la eficacia de la hexamina en su empleo para evitar la quemadura química del ortofenilfenato en experiencias con más de 30.000 frutos y usando concentraciones de ortofenilfenato que llegaron al 3 por 100 en condiciones de 37,7° C. y 2 minutos de inmersión (24).

En el año 1951, los mismos autores (27) dan a conocer el extenso trabajo experimental de más de dos años de duración y una operación comercial, en la que se trataron más de un millón de cajas de naranjá y de pomelos, y llegan a la conclusión de que las condiciones óptimas de temperatura y tiempo bajo las cuales se podía aplicar el baño fungicida conteniendo el 2 por 100 de ortofenilfenato sódico, 1 por 100 de hexamina y 0,5 por 100 de jabón, eran las siguientes: 32,2° C. y 2 minutos de duración, sin enjuague posterior. Afirman también que cuando se mantienen estas condiciones de tratamiento, el podrido en naranjas ocasionado por mohos o por podrido de pezón (stem-end rot) durante un período de dos semanas, puede reducirse del 85-90 por 100, y del 65-70 por 100 en un período de tres semanas, contadas a partir de la fecha de recolección. Estas cifras se suponen para una temperatura de almacenaje de 21° centígrados. A temperaturas de almacenaje inferiores se puede lograr todavía un control más eficaz.

En octubre de 1953, los mencionados autores (28) solucionan la dificultad surgida por pérdida de brillo de las naranjas sometidas al tratamiento anterior, mediante un enjuague posterior al mismo. Además recomiendan el siguiente baño: 2 por 100 de ortofenilfenato sódico, 1 por 100 de hexamina, 0,4 por 100 de hidróxido sódico y la cantidad de Na EDTA necesaria para corregir la dureza del agua (Na EDTA, sal sódica del ácido etilendiamintetracético), utilizando condiciones de temperatura y tiempo análogas a las empleadas en el trabajo anterior.

A las dos semanas, los resultados obtenidos son ligeramente mejores sin enjuague que con él, apareciendo ya a las tres semanas de almacenaje, ciertas diferencias entre ambos, en favor del tratamiento sin enjuague. En otra experiencia planteada para ver el efecto de un enjuague más o menos intenso, encuentran algo menos po-

drido en aquellos lotes que recibieron un enjuague ligero, pero las diferencias no llegan a ser significativas (*).

De acuerdo con la revisión bibliográfica expuesta, se decidió ensayar sobre ambas variedades, con la mezcla de ortofenilfenato sódico y hexamina en baño preparado, según la receta últimamente dada por Hopkins y Loucks, cuatro tratamientos, todos con enjuague posterior más o menos intenso, y uno además—en la Doblefina—, sin enjuague posterior; de los cuatro primeros, dos de ellos en las condiciones óptimas de temperatura y tiempo señaladas por los autores norteamericanos, y los otros dos en baño a la temperatura de 15° C, pero aumentando la duración del tratamiento y siempre con secado natural del fruto, condiciones bajo las cuales Hopkins y Loucks no habían trabajado (29). El tratamiento sin enjuague se realiza también a temperatura ambiente.

Estos últimos tratamientos han sido motivados por el deseo de proporcionar a nuestros comerciantes exportadores mayores facilidades para su aplicación, dado que ésta se efectúa a temperatura ambiente. Por la misma razón y puesto que, en general, no se suele utilizar en nuestro país el sistema de secaderos de aire caliente, corriente en Norteamérica, se ha adoptado la técnica, usual en nuestros almacenes, de dejar secar el fruto al aire durante cuarenta y ocho horas, en cajones de madera, después del tratamiento.

Los tratamientos ensayados con la mezcla de ortofenilfenato sódico y hexamina son los siguientes:

Tratamiento primero: Naranjas testigo.

Tratamiento segundo: La disolución fungicida correspondiente a la siguiente fórmula:

2 por 100 de ortofenilfenato sódico (**).

(*) Recientemente M. Benlloch, en el estudio de un método de ensayo de los desinfectantes contra los mohos de la naranja, señala que el ortofenilfenato sódico puede procurar una acción eficaz incluso en baño a la temperatura ordinaria y cinco minutos de inmersión, a dosis efectivas comprendidas entre 1,14 y 2,65 por 100 (M. Benlloch, 1953-1954. Un método de ensayo de los desinfectantes contra los mohos de la naranja. Boletín de Patología Vegetal y Entomología Agrícola. Vol. XX, págs. 181-192.)

(**) Agradecemos a Retaro, S. A. el habernos facilitado el ortofenilfenato sódico y la hexamina utilizados en estas experiencias.

1 por 100 de hexamina.

0,4 por 100 de hidróxido sódico.

En este baño se sumergen totalmente las naranjas durante seis minutos, y a la temperatura de 15° C. A continuación hay un escurrido natural de un minuto y luego un enjuague suave de veinte segundos de duración, en forma de lluvia, equivalente a unos 60 cm³ de agua por fruto. Se dejan secar al aire y temperatura ambiente durante cuarenta y ocho horas y luego se empapelan, se encajan y pasan a la cabina, en las condiciones de almacenaje que se dirán.

Se usó como disolvente agua destilada, no habiendo así necesidad de emplear corrector de dureza.

Tratamiento tercero: Idéntico al anterior, pero con un tiempo de enjuague de ochenta segundos.

Tratamiento cuarto: Se utiliza el mismo baño que en los dos anteriores, pero a la temperatura de 32,2° C. y siendo de dos minutos el tiempo de duración de la inmersión del fruto. Sigue a esto un escurrido natural de un minuto y enjuague suave de veinte segundos, en las condiciones ya citadas anteriormente. Después se seca, empapela y encaja como en el anterior tratamiento.

Tratamiento quinto: Igual que el anterior, pero con enjuague de ochenta segundos de duración.

Tratamiento octavo: El mismo baño que en los tratamientos anteriores, pero a temperatura de 15° C. y cuatro minutos de duración de la inmersión del fruto. A continuación se escurre (no hay enjuague), seca, empapela y encaja como en los anteriores tratamientos.

B) USO DEL BÓRAX Y DE LA MEZCLA BÓRAX MÁS ÁCIDO BÓRICO.

Esta revisión bibliográfica está orientada principalmente al podrido causado por los mohos verde y azul.

Barger y Hawkins (30) señalan, que con posterioridad al año 1916, ya se usaba mucho en California, en el lavado de naranjas y limones, un jabón conteniendo bórax.

Los norteamericanos Fulton y Bowman (31) publican en 1924 los resultados de sus investigaciones, en las que tratan de encontrar

un producto químico barato, capaz de controlar el podrido que ocasiona el moho azul. Ensayaron diversos productos, entre los cuales se encontraba el ácido bórico, siendo el bórax el que dió mejor protección. Llegan a la conclusión de que su empleo en solución al 5 ó 10 por 100, aplicada a la superficie de las naranjas y dejada secar sobre ellas, reduce considerablemente el podrido ocasionado por el moho azul y el podrido de pezón —en frutos cítricos de Florida—, bajo condiciones experimentales que son favorables al desarrollo de los mismos.

Es importante, dicen, evitar que transcurra mucho tiempo entre la recolección y el tratamiento. Reconocen que el tratamiento con bórax no puede evitar en modo alguno todo el podrido, y que durante el empleo de las soluciones de bórax no observaron lesión alguna sobre la piel.

Más tarde, Fulton y Winston (32) señalan la eficacia de la solución de bórax al 5 por 100 a 48,8° C. durante cinco minutos, en la lucha contra el podrido del moho azul. Este procedimiento fué patentado por la Brogdex-Company (33).

En California, Barger y Hawkins (30), en 1925, publican sus trabajos sobre el empleo del bórax como desinfectante para frutos cítricos. En su primera experiencia obtuvieron un buen control del podrido con ácido bórico U. S. P. al 2,5 por 100, 48,8° C. y cinco minutos de inmersión. Luego probaron el bórax, y obteniendo con él resultados tan buenos, en el control del podrido por moho azul, como con ácido bórico—siendo mucho más barato—, lo emplearon en todas sus ulteriores experiencias. Los mejores resultados los obtuvieron a temperaturas más altas (48,8° C.), con más tiempo de inmersión, ocho minutos (habiendo ensayado dos, cuatro y seis minutos), y dejando secar el bórax sobre el fruto, o sea no enjuagando con agua.

En resumen, señalan que «el moho azul puede ser controlado extensamente tratando el fruto con una solución de bórax; la mayor parte de este trabajo se hizo en los almacenes y con equipo adaptado a la escala comercial. Aunque el bórax, a la concentración indicada, no es tan eficaz contra el moho verde como contra el azul, es probable que lo sea a concentraciones más elevadas».

Posteriormente, Barger (34), partiendo de datos experimenta-

les y de los obtenidos de embarques comerciales, llega a la conclusión de que el podrido ocasionado por ambos mohos, verde y azul, puede controlarse mediante una solución de bórax al 7 por 100, a 43,3° C. Esto fué confirmado por Reichert, J. y F. Littauer (Palestina) (35), los cuales corroboran el uso de 7 por 100 de bórax a 43,3° C. durante cinco minutos.

Powel, en Sudáfrica (36), señala la eficacia de una solución caliente de 2,5 a 5 por 100 de bórax o ácido bórico (solo o en combinación con bórax), en el control del moho verde.

Benton (37), propone aumentar la concentración de bórax hasta un 8 por 100 y reducir a cuatro minutos la duración del tratamiento, opinión también mantenida por Putterill (38).

Winston, J. R. da a conocer en 1935 (39) los resultados de sus investigaciones sobre el empleo del bórax en la reducción del podrido de cítricos. Utiliza, sobre naranjas, pomelos y tangerinas, bórax al 5 por 100, inmersión instantánea y temperatura de 26,6° C. Obtiene los mismos resultados cuando usa la mezcla de ocho partes de bórax y una de ácido bórico a igual concentración, tiempo y temperatura que antes. Después del tratamiento antiséptico deja secar el fruto, haciendo luego el tratamiento de coloración; a continuación lava con agua y almacena los frutos. Los mismos resultados obtiene usando ácido bórico a igual concentración. En estos tratamientos se puso de manifiesto también que el ácido bórico, solo o en combinación con bórax, lesiona la piel de las naranjas, pomelos y tangerinas.

Con una solución de bórax al 5 por 100 y temperatura de 43,3° C., estudió el efecto de la duración del tratamiento sobre el control del podrido de pezón, llegando a la conclusión de que las diferencias entre el resto de los tratamientos —cuatro, seis, ocho, diez y doce minutos— y el de dos minutos, no eran lo suficiente grandes como para tener significación práctica.

Al estudiar el efecto de la concentración del bórax sobre el control del podrido total, dice Winston que «es también evidente que la eficacia de la solución de bórax aumenta hasta que la concentración alcanza el 8 ó 10 por 100. A partir de esta cifra, no parece existir ningún aumento señalado en la eficacia del control».

Estudiando el efecto de la temperatura, dice no haber observa-

do diferencias significativas en el control del podrido cuando, empleando bórax al 5 por 100, utiliza varias temperaturas.

En sus conclusiones señala, entre otras cosas, que un baño de bórax dado a los frutos cítricos, inmediatamente de su llegada al almacén retarda el podrido de pezón y por moho azul; tratamientos diferidos no fueron tan eficaces; el tratamiento antiséptico fué mucho más eficaz sobre fruto duro que sobre fruto muy maduro y presto ya a desprenderse del árbol; indica para resultados óptimos una concentración de bórax no inferior al 8 por 100; cuando sea posible, el fruto mojado debe dejarse secar lentamente y el residuo de bórax debe quedar sobre él durante varias horas.

Fawcett (40) señala que el bórax o la mezcla de bórax y ácido bórico es mucho más eficaz contra el moho verde que contra el moho azul

En 1937, Tomkins (41) indica que la influencia retardadora del ion boro sobre el crecimiento de los hongos se aumenta cuando las condiciones se hacen más alcalinas. Fidler y Tomkins (42) y Fidler, Furlong y Tomkins (43) señalan que una solución de bórax al 2 por 100 con 1 por 100 de hidróxido sódico es doble eficaz «como desinfectante para naranjas», que la solución de bórax al 5 por 100. Además, sus propiedades fungicidas no se reducen considerablemente si el fruto se lava con agua, brevemente, después del tratamiento.

En Australia, 1939 (44), el podrido se reduce mediante lavado con una solución conteniendo 1 por 100 de hidróxido sódico y 8 por 100 de bórax.

En 1939, Tzeretky y Tchanturia (45) en Rusia, señalan un buen control del podrido por *Penicillium* con bórax al 8 por 100 y cinco minutos de inmersión.

Wei y Hu, en China, en 1941 (46), ensayan diversos tratamientos, obteniendo los mejores resultados con bórax comercial al 5 por 100 y mezcla de bórax y ácido bórico (en proporción 2 : 1) al 5 por 100, en baño a 48,8° C. y cinco minutos de inmersión. También hacen notar que frutos lavados después del tratamiento se pudren tanto como el testigo.

En 1946, Hwang, Chow y Ching (47), en China, señalan un

buen control del moho azul con soluciones de bórax al 6 por 100 y cinco minutos de inmersión.

Klotz y Fawcett (11), en 1948, recomiendan para naranjas el empleo de bórax en solución del 5 al 8 por 100, o de la mezcla de 4 por 100 de bórax y 2 por 100 de ácido bórico a la temperatura de 46,1-49° C., durante un tiempo de dos a cuatro minutos.

Winston, en 1950 (23), señala que en los almacenes de Florida, Louisiana y Texas, suelen usar en el tanque de bórax una temperatura de 38-43,3° C. y la concentración de 5 al 8 por 100. La temperatura se mantiene bajo control termostático y el tamaño del tanque es suficiente para retener al fruto durante un tiempo de tres a cinco minutos. A la salida del baño se efectúa un lavado con agua en forma de lluvia a fin de separar el exceso de bórax que se adhiere al fruto.

El bórax, dice Winston, aplicado entonces, no es tan eficaz como si se aplica inmediatamente después de su recolección o de su llegada al almacén. Como ésto supone un exceso de complicación en las operaciones del mismo, no es generalmente aceptado. Reconoce que el tratamiento, tal como suele hacerse, supone poco o ningún beneficio en la lucha contra el podrido de pezón, pero es bastante eficaz frente al podrido del moho verde.

Al referirse al empleo de la mezcla bórax más ácido bórico, dice: «La insolubilidad relativa del bórax es una desventaja que puede ser en parte superada mediante el uso de una mezcla de dos partes de bórax y una de ácido bórico. Tal mezcla es considerablemente más soluble que el bórax, pero es más probable que lesione al fruto que sólo ha alcanzado la madurez legal.»

L. J. Klotz, en 1954 (48), da a conocer las recomendaciones del personal del Sunkist Field Department Laboratory (California) que, entre otras cosas, aconseja el siguiente tratamiento: 4 por 100 de bórax más 2 por 100 de ácido bórico, a la temperatura de 46,1° C., durante cuatro minutos.

Dadas las condiciones que rigen en el trabajo de nuestros almacenes de confección, creímos conveniente ensayar sobre ambas variedades, los siguientes tratamientos:

Tratamiento sexto: Baño conteniendo 4 por 100 de bórax y 2 por

100 de ácido bórico comerciales. Las naranjas se sumergen en él cuando alcanza la temperatura de 46° C. y durante un tiempo de cuatro minutos; en el transcurso de este tiempo la temperatura del baño nunca desciende de 43,3° C. Sigue luego un escurrido natural de un minuto y a continuación un enjuague suave, bajo ducha, durante veinte segundos. Secado al aire durante cuarenta y ocho horas, empapelado con guantes y encajado.

Tratamiento séptimo: Baño conteniendo 6 por 100 de bórax comercial; temperatura del baño, tiempo de duración del tratamiento y de escurrido, así como enjuague, idénticos a los del anterior.

Todos estos tratamientos fungicidas, siempre se aplicaron el mismo día en que se recolectó el fruto.

PLANTEAMIENTO DE LA EXPERIENCIA

Los investigadores norteamericanos E. F. Hopkins y K. W. Loucks señalan en sus trabajos sobre el podrido de frutos cítricos (49,50), que se trata de una clase de experiencias en las que el material es intrínsecamente variable, pues en el podrido de la naranja influye: la variedad, la fertilización de los árboles —si hay deficiencia en magnesio la naranja se pudre más que si la fertilización en este elemento es completa—, la situación del huerto y hasta en un mismo árbol las respuestas de sus frutos frente al podrido, cuando se mantienen en condiciones de almacenaje comparables, varían según la orientación.

De acuerdo con todo esto, plantean las experiencias siguiendo las directrices señaladas por Fisher en sus trabajos sobre experimentación agrícola efectuados en la Estación Agrícola de Rothamsted. Los datos así obtenidos los someten luego al análisis de la varianza. En el planteamiento de estas experiencias se han seguido las mismas normas generales.

Las 700 y 800 naranjas que forman los siete y ocho lotes de cada una de las repeticiones han cumplido siempre los siguientes requisitos:

1.º Ser todas de la misma variedad, Comuna y Doblefina, respectivamente.

2.º Proceder todas de un mismo huerto, recolectadas al mismo tiempo y estando aproximadamente en el mismo estado de madurez.

3.º Mediante selección cuidadosa, se han eliminado aquellas naranjas que, por lesiones en la piel o por otras causas, pudieran ser motivo de disminución en el grado de homogeneidad del material.

4.º Proceder a la formación de lotes de manera que exista entre ellos la máxima homogeneidad posible y someterlos, después de los tratamientos, a condiciones idénticas de temperatura y humedad.

Dadas las dificultades que presentó el desplazamiento personal a los huertos para la recogida del fruto, lo que creemos constitu-

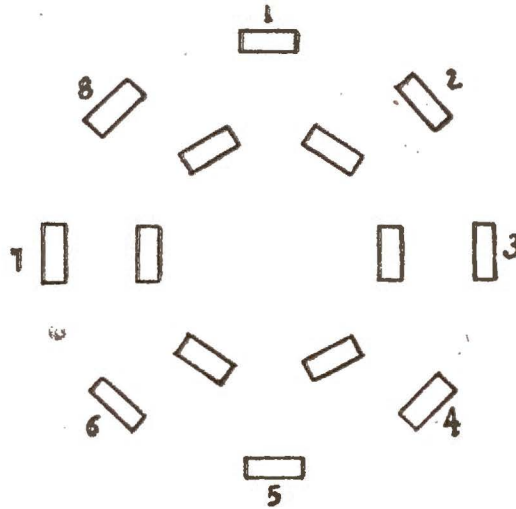


FIG. 1.

ye la mejor solución para lograr el cumplimiento de los anteriores requisitos, tuvimos que limitarnos a proceder a la formación de lotes partiendo de los cajones de naranjas facilitados por el comerciante exportador directamente desde el huerto.

La formación de lotes se hizo con arreglo a la siguiente técnica:

Colocado en el centro el individuo encargado de formar los

lotes, toma una naranja de cada uno de los cajones del círculo interior y la pasa, por ejemplo, al cajón vacío núm. 1 de los que componen el círculo exterior (véase fig. 1). Repite la operación y las otras siete naranjas las coloca en el cajón núm. 2. Idem y al cajón núm. 3, y así sucesivamente hasta llegar al núm. 8. De nuevo se repite toda la vuelta hasta conseguir, finalmente, que en los ocho cajones exteriores existan 105 naranjas en cada uno. De cada uno de estos lotes se separan cinco naranjas para las pruebas de madurez.

Del mismo modo se procedió en la formación de lotes correspondientes a la variedad Comuna.

Se actuó así a fin de que en cada lote entrasen naranjas de cada uno de los diferentes estratos existentes en los cajones de campo llenados en el huerto y traídos directamente, lo que, en la hipótesis de que cada uno de estos estratos contenga frutos de la máxima homogeneidad, indudablemente se traducirá en un mayor grado de homogeneidad en los lotes.

CONDICIONES BAJO LAS CUALES SE ALMACENARON LOS DIFERENTES LOTES Y MÉTODO SEGUIDO EN EL DESARROLLO DE LA EXPERIENCIA

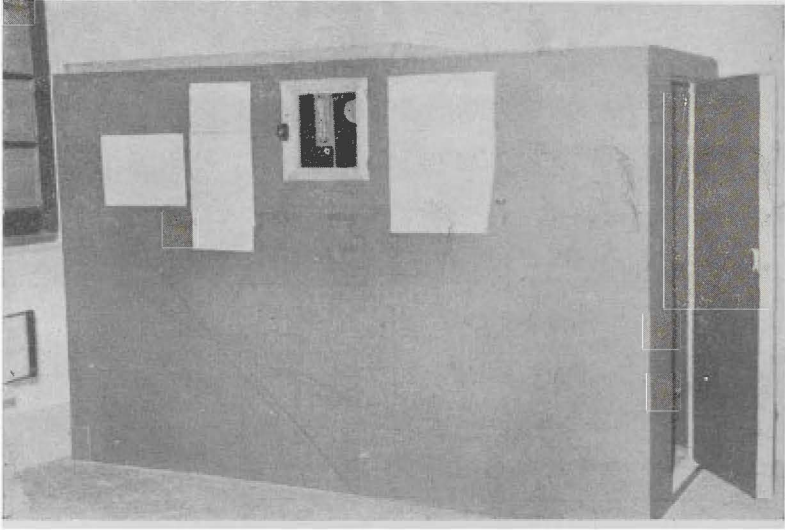
- La elección de las condiciones bajo las cuales habían de almacenarse las naranjas se hizo de modo que cumpliesen con:

a) Humedad y temperatura adecuadas para el desarrollo de los mohos *Penicillium digitatum* Sacc y *Penicillium italicum* Wehmer. Ya en 1927 Fawcett y Barger (51) y en 1929 Savastano y Fawcett (52), determinaron que la temperatura óptima para el desarrollo del podrido causado por ambos mohos es la de 24° C. Por otra parte la humedad elevada favorece también su desarrollo.

b) Las condiciones a elegir no debían ser ni tan favorables al desarrollo de estos mohos que pudiesen impedir ver el efecto de los tratamientos, ni tan desfavorables que constituyesen por sí mismas un impedimento en el desarrollo del podrido.

Según lo anterior, creímos acertado adoptar una temperatura de 21° C. y una humedad comprendida entre 80 y 90 por 100.

A tal efecto hubo necesidad de construir una cabina para el almacenaje de los frutos de las diferentes repeticiones en condiciones comparables, la que puede verse en la foto núm. 9. Está construida de táblex con doble pared y fibra de vidrio interpuesta. Mediante control termostático, se aseguró una temperatura media



Foro 9.

Cabina para el almacenaje de los distintos lotes.

muy próxima a los 21° C. En las naranjas de la variedad Comuna desde el 4 de enero al 9 de febrero del año 1954, período en el que se desarrollaron las experiencias, la máxima general registrada fué de $22,5^{\circ}$ C. y la mínima general de $19,5^{\circ}$ C. La media general calculada fué de $20,94^{\circ}$ C. En las naranjas de la variedad Doble-fina las experiencias se desarrollaron desde el 2 de febrero al 30 de abril del mismo año, siendo de $22,6^{\circ}$ C. y $19,5^{\circ}$ C. las temperaturas máxima y mínima respectivas. La media general calculada fué de $21,19^{\circ}$ C.

La humedad se reguló con el simple dispositivo de colocar un

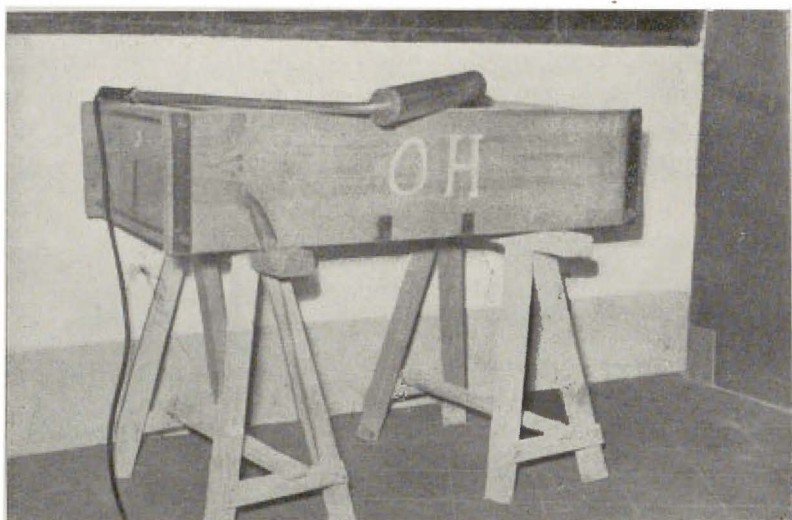


Foto 10.

Recipiente para la solución fungicida y calentador eléctrico.

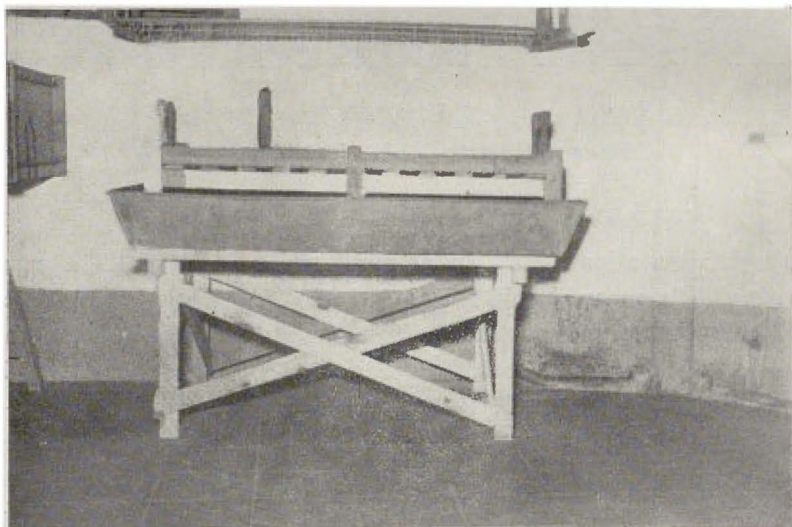


Foto 11.

Cesta para colocar las naranjas, a fin de someterlas a los diversos tratamientos fungicidas y modo de enjuagarlas.

recipiente con agua sobre el foco calorífico que va conectado al termostato, y variando la distancia de aquel al recipiente se pudo conseguir mantener la humedad deseada. A la vez que, tres veces al día, se hacían las lecturas de temperaturas, se tomaba nota de la humedad registrada mediante un psicrómetro. En la variedad Comuna, durante todo el tiempo que duró la experiencia, la máxima general de humedad registrada fué del 92 por 100 y la mínima de 78 por 100. La humedad media general calculada fué del 87 por 100. En la variedad Doblefina la máxima y mínima fueron respectivamente de 92 por 100 y 80 por 100. La humedad media general calculada fué del 86,8 por 100.

Para evitar una excesiva acumulación de los productos naturales del metabolismo de los frutos almacenados en la cabina, lo que influye aumentando la cantidad de podrido de pezón (50) y moho verde (53), se ventiló ésta una vez al día durante diez minutos.

Al final de la segunda, tercera y cuarta semana de almacenaje, contadas a partir de la recolección y en cada una de las repeticiones de ambas experiencias, se efectuaron revisiones de podrido, clasificándolos atendiendo a los mohos que lo ocasionaron. En las experiencias con naranjas de la variedad Comuna, en cada revisión se retiraron los frutos que se habían podrido, mientras que en las experiencias efectuadas con la variedad Doblefina se hizo la revisión sin retirar los frutos podridos.

Las diferentes soluciones fungicidas se colocaron en unos recipientes de madera recubiertos interiormente de chapa de zinc y calentados eléctricamente (foto núm. 10). Las naranjas se colocaban en el interior de una especie de cesta, confeccionada con listones de madera, con una tapadera que impedía la flotación de las mismas (foto núm. 11); mediante un cronómetro se controlaba la duración del tratamiento, el tiempo de escurrido y la duración del enjuague. Este se hacía sometiendo las naranjas, en la misma cesta, a una ducha.

Seguía luego el secado al aire en cajones de madera durante cuarenta y ocho horas, empapelado de la fruta, encajado y su colocación en la cabina.

Las experiencias se desarrollaron en las siguientes fechas:

	Repeticiones	Fecha recolección
Variedad Comuna:	1. ^a	4-1-54
	2. ^a	8-1-54
	3. ^a	12-1-54
Variedad Doblefina:	1. ^a	2-2-54
	2. ^a	21-2-54
	3. ^a	9-3-54
	4. ^a	2-4-54

A fin de conocer el grado de madurez de las naranjas que se sometieron a experimentación, en ambas experiencias y de cada uno de los lotes de las distintas repeticiones, se tomaron al azar cinco naranjas, lo que hacía un total de 35 y 40 naranjas según la variedad. Se extraía todo el zumo, se mezclaba perfectamente, y sobre una muestra del mismo se determinaba la madurez. En la siguiente tabla aparecen los resultados de los análisis efectuados:

Variedad	Repeticiones	Grado acidez	Densidad 20°/H ₂ O 15° C
Comuna.....	1. ^a	16,8	1,041
»	2. ^a	20,2	1,048
»	3. ^a	18,8	1,051
Doblefina.....	1. ^a	17,9	1,045
»	2. ^a	15,6	1,0432
»	3. ^a	10,9	1,0433
»	4. ^a	11,8	1,0448

Se ha considerado el grado de acidez como equivalente a un gramo de ácido cítrico anhidro por litro de zumo.

Como se ve, todas las naranjas de las diferentes repeticiones, en el momento de las experiencias habían alcanzado la madurez legal.

Las naranjas utilizadas en ambas experiencias procedían de huertos del distrito de Gandía.

RESULTADOS

En la tabla núm. 1 aparece el podrido encontrado en los diferentes tratamientos al final de la primera, segunda, tercera y cuarta semanas de almacenaje, contadas a partir de la fecha de recolección. Puede observarse en ella las diferentes especies de mohos que ocasionaron el podrido en la variedad Comuna.

A partir de los valores de la tabla anterior y puesto que, como luego veremos, las diferencias de los tratamientos en relación con el testigo resultaron ser muy significativas, y por el contrario las diferencias encontradas entre los diferentes tratamientos entre sí, a excepción del 3.º y 4.º en relación con el 6.º, no alcanzaron a ser ni moderadamente significativas, se ha calculado, tabla núm. 2, el tanto por cien de reducción media del podrido debido a los tratamientos, llegándose a los siguientes resultados:

Al final de la	segunda	semana	74,8	%	de control
»	tercera	»	65,7	%	»
»	cuarta	»	63	%	»

Para el tratamiento núm. 6 —4 por 100 bórax, 2 por 100 ácido bórico—, que presentó la máxima diferencia en relación con el testigo, el control de podrido alcanza los siguientes valores:

Al final de la	segunda	semana	87,5	%	de control
»	tercera	»	82	%	»
»	cuarta	»	74,4	%	»

Al final de la tercera semana, los datos de la experiencia se someten a análisis de la varianza, y después de calcular la diferencia necesaria para la significación para los niveles del 5 y del 1 por 100, resultaron ser muy significativos en relación con el testigo todos los tratamientos, siendo el tratamiento 6.º el que presentó mayor diferencia. Las diferencias de los tratamientos 3.º y 4.º en relación con el 6.º alcanzaron a ser tan sólo moderadamente significativas. Las de los demás tratamientos entre sí no llegaron a

TABLA NÚM. 1

Tanto por ciento de podrido en la variedad "Comuna"

Tratamientos	1.ª semana				2.ª semana				3.ª semana				4.ª semana			
	Moho verde.	Moho azul	M. verde + azul	Otros podridos	Moho verde	Moho azul	M. verde + azul	Otros podridos	Moho verde	Moho azul	M. verde + azul	Otros podridos	Moho verde	Moho azul	M. verde + azul	Otros podridos
BLOQUE A																
1.º	8				23				25				28			
2.º	1				3				4				8			
3.º	1				2				6				9			
4.º	2	2			5	2			6	2			8	2		
5.º	1				6			1	8			1	13			1
6.º	0				0				1				4			
7.º	0				4				10				12	1		
BLOQUE B																
1.º	5		1		25		1		27		1		30	2	2	
2.º	3				5				8				9			
3.º	1				5			1	9		1	1	10		1	1
4.º	2				14	1			16	1	2		17	1	2	
5.º	4				8				11				12			
6.º	1	1			5	1			8	1			10	2		
7.º	2				8		1		10		1		10		1	
BLOQUE C																
1.º	7				14	1			18	1			19	1		
2.º	0				1		1		4		1		4		1	
3.º	7				13				14				14	1		
4.º	1				2	2			5	2			6	2		
5.º	3				5				7				7			
6.º	0	1			1	1			2	1			4	1		
7.º	0				0				3	1	1		5	2	1	

TABLA NÚM. 2

Tanto por ciento de reducción del podrido medio de los tratamientos en la variedad "Comuna"

Segunda semana

Bloques	T R A T A M I E N T O S						
	1.º	2.º	3.º	4.º	5.º	6.º	7.º
A.....	23	3	2	7	7	0	4
B.....	26	5	6	15	8	6	9
C.....	15	2	13	4	5	2	0
Totales	64	10	21	26	20	8	13

Podrido medio por ciento de los tratamientos $\frac{10 + 21 + 26 + 20 + 8 + 13}{6} = 16,33$

Podrido del testigo 64

Podrido medio de tratamientos 16,33

Reducción 47,67

% de reducción de podrido = $\frac{47,67 \times 100}{64} = 74,48\%$

Tercera semana

Bloques	T R A T A M I E N T O S						
	1.º	2.º	3.º	4.º	5.º	6.º	7.º
A.....	25	4	6	8	9	1	10
B.....	28	8	11	19	11	9	11
C.....	19	5	14	7	7	3	5
Totales	72	17	31	34	27	13	26

Podrido medio por ciento de los tratamientos $\frac{17 + 31 + 34 + 27 + 13 + 26}{6} = 24,66$

Podrido del testigo 72

Podrido medio de tratamientos 24,66

Reducción 47,34

% de reducción de podrido = $\frac{47,34 \times 100}{72} = 65,75\%$

Cuarta semana

Bloques	T R A T A M I E N T O S						
	1.º	2.º	3.º	4.º	5.º	6.º	7.º
A	28	8	9	10	14	4	13
B	34	9	12	20	12	12	11
C	20	5	15	8	7	5	8
Totales	82	22	36	38	33	21	32

Podrido medio por ciento de los tratamientos $\frac{22+36+38+33+21+32}{6} = 30,33$

Podrido del testigo.....	82
Podrido medio de tratamientos	30,33
Reducción	51,67

$$\% \text{ de reducción de podrido} = \frac{51,67 \times 100}{82} = 63,01 \%$$

TABLA NÚM. 3

Variedad "Comuna" al final de la tercera semana

*Diferencias de los tratamientos frente al testigo
ordenadas de mayor a menor*

$$1^\circ - 6^\circ = 24 - 4,3 = 19,7^{**}$$

$$1^\circ - 2^\circ = 24 - 5,7 = 18,3^{**}$$

$$1^\circ - 7^\circ = 24 - 8,7 = 15,3^{**}$$

$$1^\circ - 5^\circ = 24 - 9 = 15^{**}$$

$$1^\circ - 3^\circ = 24 - 10,3 = 13,7^{**}$$

$$1^\circ - 4^\circ = 24 - 11,3 = 12,7^{**}$$

Diferencias de los tratamientos entre sí

$$4^\circ - 6^\circ = 11,3 - 4,3 = 7^*$$

$$3^\circ - 6^\circ = 10,3 - 4,3 = 6^*$$

$$4^\circ - 2^\circ = 11,3 - 5,7 = 5,6^*$$

** Diferencias significativas para el nivel del 1%: Muy significativas.

* Diferencias significativas para el nivel del 5%: Moderadamente significativas.

ser ni moderadamente significativas. El cálculo de todas las diferencias mencionadas aparece en la tabla núm. 3.

En la figura 2 representamos gráficamente las medias del podrido encontrado en las tres repeticiones al final de las sucesivas semanas, expresando los porcentajes con que aparecen los mohos que lo ocasionan.

También quedan representadas gráficamente, al final de la tercera y cuarta semanas, las mínimas diferencias necesarias para la significación. Al final de la tercera semana, estas diferencias son:

Para $P = 0,05$	5,49
» $P = 0,01$	7,7

Al final de la cuarta semana, las diferencias valen:

Para $P = 0,05$	6,45
» $P = 0,01$	9,04

Al final de la segunda semana se observó que en los tratamientos 2.º, 3.º, 4.º y 5.º aparecían quemaduras químicas en 1,16 por 100 de los frutos tratados. Tales tratamientos eran los efectuados con ortofenilfenato sódico, y las manchas fueron probablemente debidas—aparte de la posible influencia de la variedad—a alguna deficiencia en el enjuague que, dada la técnica de secado natural, provocaría una excesiva permanencia de la solución fungicida sobre la piel del fruto.

Habiéndose observado lesiones en la piel de algunas naranjas al final de la cuarta semana, la mayoría por envejecimiento, en un promedio de 4,4 por 100 del total, aplicado el análisis de la varianza, no se ha encontrado significación estadística entre los distintos tratamientos.

En la experiencia con naranjas de la variedad Doblefina y en la tabla núm. 4 resumimos el podrido encontrado en los diferentes tratamientos al final de la segunda, tercera y cuarta semanas de almacenaje.

A partir de los valores de la tabla anterior y puesto que, como luego veremos, las diferencias de los tratamientos en relación con el testigo resultaron ser muy significativas —excepto para el tercero—, y por el contrario, las diferencias encontradas entre los di-

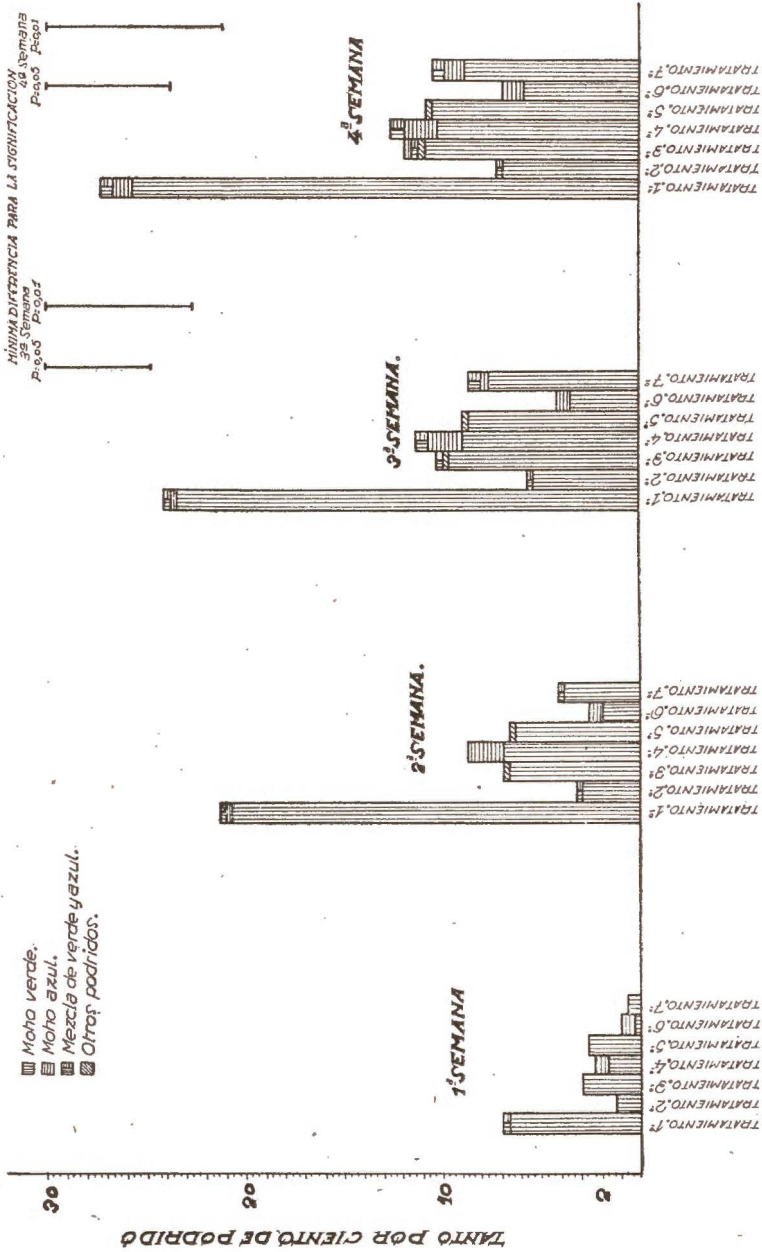


Fig. 2.

Medias del podrido encontrado en los tres bloques al final de las sucesivas semanas, expresando los porcentajes con que aparecen los mohos que lo ocasionan. Variedad «Comuna».

TABLA NÚM. 4

Tanto por ciento de podrido en la variedad "Doblefina"

Tratamientos	2. ^a semana			3. ^a semana			4. ^a semana		
	Moho verde	Moho azul	M. verde+azul	Moho verde	Moho azul	M. verde+azul	Moho verde	Moho azul	M. verde+azul
BLOQUE A									
1. ^o	12			17			18	I	I
2. ^o	0			0			I		
3. ^o	0			I					I
4. ^o		I		2	I		3	I	
5. ^o	2			3			4		
6. ^o	I			3			5		
7. ^o	2			4			3		2
8. ^o	0			0			0		
BLOQUE B									
1. ^o	3			6			8	2	
2. ^o	0			0			I	I	
3. ^o	2			5			4	4	2
4. ^o	0					I	I		I
5. ^o	0			0			I		
6. ^o	I			2			2	I	
7. ^o	I			I			2		
8. ^o	0			I			2		
BLOQUE C									
1. ^o	3			5			6		
2. ^o	2			5			3	3	I
3. ^o	3			5			6		I
4. ^o	0			I					I
5. ^o	I			3			3		I
6. ^o	0			0			I		I
7. ^o	0			I			I		I
8. ^o	0			0			2	I	
BLOQUE D									
1. ^o	5			8			8		
2. ^o	I			3	I		3	4	
3. ^o	2			6			6		
4. ^o	I			3			5	I	
5. ^o	4			5			10		
6. ^o	I			I			3		I
7. ^o	0			4			4	2	
8. ^o	3			5			3	6	

TABLA NÚM. 5

Tanto por ciento de reducción del podrido medio de los tratamientos de la variedad "Doblefina"

Segunda semana

Bloques	T R A T A M I E N T O S							
	1.º	2.º	3.º	4.º	5.º	6.º	7.º	8.º
A	12	0	0	1	2	1	2	0
B	3	0	2	0	0	1	1	0
C	3	2	3	0	1	0	0	0
D	4	1	2	1	4	1	0	3
Totales....	22	3	7	2	7	3	3	3

Podrido medio por ciento de los tratamientos $\frac{3+7+2+7+3+3+3+3}{7} = 4$

Podrido del testigo 22

Podrido medio de tratamientos 4

Reducción 18

% de reducción de podrido = $\frac{18 \times 100}{22} = 81,81\%$

Tercera semana

Bloques	T R A T A M I E N T O S							
	1.º	2.º	3.º	4.º	5.º	6.º	7.º	8.º
A	17	0	1	3	3	3	4	0
B	6	0	5	1	0	2	1	1
C	5	5	5	1	3	0	1	0
D	8	4	6	3	5	1	4	5
Totales....	36	9	17	8	11	6	10	6

Podrido medio por ciento de los tratamientos $\frac{9+17+8+11+6+10+6}{7} = 9,57$

Podrido del testigo..... 36

Podrido medio de tratamientos..... 9,57

Reducción 26,43

% de reducción de podrido = $\frac{26,43 \times 100}{36} = 73,41\%$

Cuarta semana

Bloques	T R A T A M I E N T O S							
	1.º	2.º	3.º	4.º	5.º	6.º	7.º	8.º
A	20	1	1	4	4	5	5	0
B.....	10	2	10	2	1	3	2	2
C.....	6	7	7	1	3	2	2	3
D.....	8	7	6	6	10	4	6	9
Totales....	44	17	24	13	18	14	15	14

Podrido medio por ciento de los tratamientos $\frac{17+24+13+18+14+15+14}{7} = 16,45$

Podrido del testigo	44
Podrido medio de tratamientos.....	16,43
Reducción	27,57

$\% \text{ de reducción de podrido} = \frac{27,57 \times 100}{44} = 62,66\%$

TABLA NÚM. 6

Variedad "Doblefina" al final de la tercera semana

*Diferencias de los tratamientos frente al testigo
ordenadas de mayor a menor*

$$\begin{aligned}
 1^\circ - 6^\circ &= 9 - 1,5 = 7,5 \quad ** \\
 1^\circ - 8^\circ &= 9 - 1,5 = 7,5 \quad ** \\
 1^\circ - 4^\circ &= 9 - 2 = 7 \quad ** \\
 1^\circ - 2^\circ &= 9 - 2,25 = 6,75 \quad ** \\
 1^\circ - 7^\circ &= 9 - 2,5 = 6,5 \quad ** \\
 1^\circ - 5^\circ &= 9 - 2,75 = 6,25 \quad ** \\
 1^\circ - 3^\circ &= 9 - 4,25 = 4,75 \quad *
 \end{aligned}$$

** Diferencias significativas para el nivel del 1%: Muy significativas.

* Diferencias significativas para el nivel del 5%: Moderadamente significativas.

ferentes tratamientos entre sí no alcanzaron a ser ni moderadamente significativas, se ha calculado (tabla núm. 5) el tanto por ciento de reducción media del podrido debido a los tratamientos bajo las condiciones de almacenaje ya citadas, llegándose a los siguientes resultados:

Al final de la segunda semana	81,8	0/0	de control
» tercera	73,4	0/0	»
» cuarta	62,6	0/0	»

Para los tratamientos números 6 (4 por 100 de bórax, 2 por 100 de ácido bórico) y 8 (2 por 100 ortofenilfenato sódico, 1 por 100 hexamina y 0,4 por 100 hidróxido sódico, sin enjuague), que presentaron la máxima diferencia en relación con el testigo, el control del podrido alcanza los siguientes valores:

Al final de la segunda semana	86,4	0/0	de control
» tercera	83,3	0/0	»
» cuarta	68,2	0/0	»

Al final de la tercera semana los datos de esta otra experiencia se someten a análisis de la varianza, y después de calcular la diferencia necesaria para la significación para los niveles del 5 y del 1 por 100, resultaron ser muy significativos en relación con el testigo todos los tratamientos, a excepción del 3.º que es moderadamente significativo, siendo los tratamientos 6.º y 8.º los que presentan mayor diferencia. Las diferencias de los distintos tratamientos entre sí no alcanzaron a ser ni moderadamente significativas, por lo que no figuran en la tabla núm. 6, en la que aparecen estas diferencias de los tratamientos frente al testigo.

En la figura 3 representamos gráficamente las medias del podrido encontrado en las cuatro repeticiones, expresando los porcentajes con que aparecen los mohos que lo ocasionan. También quedan representadas gráficamente al final de la tercera y cuarta semanas las mínimas diferencias necesarias para la significación. Al final de la tercera semana estas diferencias son:

Para $P = 0,05$	3,81
» $P = 0,01$	5,18

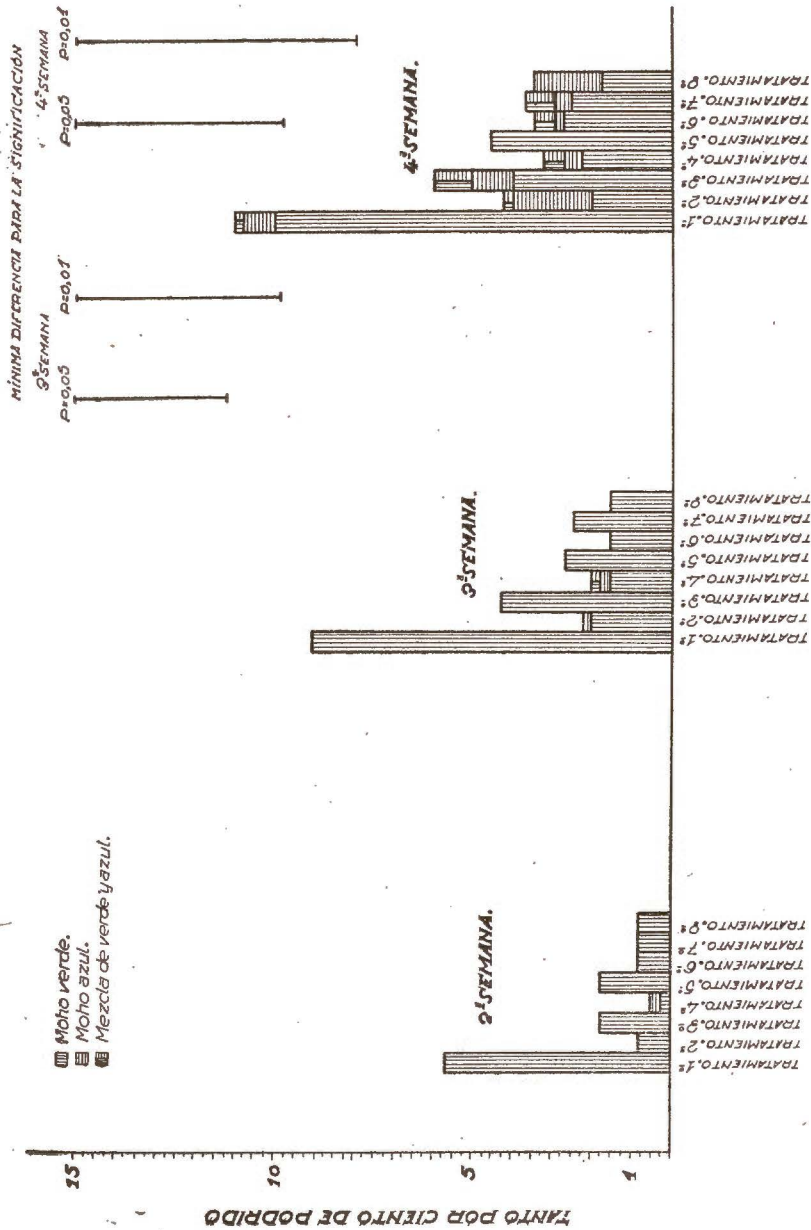


Fig. 3.

Medias del podrido encontrado en los cuatro bloques al final de las sucesivas semanas, expresando los porcentajes con que aparecen los mohos que lo ocasionan. Variedad «Doblefina».

Al final de la cuarta semana, las diferencias valen:

Para $P = 0'05$	5,20
» $P = 0'01$	7,07

En la piel de las naranjas de esta variedad Doblefina, ni a las dos semanas, ni al final de la cuarta se encontró lesión alguna sobre los 3.200 frutos tratados. Es significativo el hecho de que en el tratamiento octavo—ortofenilfenato sódico, sin enjuague—no apareciese, a pesar de dejar secar el fruto al aire en cajones, ninguna quemadura química.

En el podrido de ambas variedades se observa claramente el predominio del moho verde sobre el azul, y la casi completa ausencia de otros tipos de podrido.

El Instituto «Jaime Ferrán» de Microbiología, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, efectuó el trabajo de identificación de las especies de hongos que, en general, ocasionaron el podrido, las que resultaron ser: *Penicillium digitatum* (moho verde) y *Penicillium italicum* (moho azul).

Al final de la tercera semana, el podrido medio por lote en la variedad Comuna es tres veces superior al de la variedad Doblefina en los mismos tratamientos que aquélla.

CONCLUSIONES

1.º Las especies de mohos que ocasionaron, en ambas variedades, la casi totalidad del podrido fueron: *P. digitatum* (moho verde) y *P. italicum* (moho azul). El primero se presentó en una proporción muy superior a la del segundo.

2.º A lo largo de toda la experiencia, en las naranjas de la variedad Comuna, las diferencias en relación con el testigo de los seis tratamientos ensayados son muy significativas, pues lo son para el nivel del 1 por 100. Los tratamientos a temperatura ambiente con ortofenilfenato sódico y urotropina han resultado ser eficaces.

3.º En las naranjas de la variedad Doblefina, y a lo largo de toda la experiencia, las diferencias en relación con el testigo de

todos los tratamientos ensayados, a excepción del tercero, son muy significativas. La diferencia entre este tratamiento y el testigo es tan sólo moderadamente significativa, pues lo es para el nivel del 5 por 100.

4.º En las naranjas de la variedad Comuna, al final de la tercera semana a contar desde su recolección, las diferencias entre los tratamientos 3.º y 4.º en relación con el 6.º, son moderadamente significativas. El resto de las diferencias de los demás tratamientos entre sí no alcanzan a ser ni moderadamente significativas.

5.º En las naranjas de la variedad Doblefina, al final de la tercera semana, las diferencias, a excepción del testigo, de los distintos tratamientos entre sí, no alcanzan a ser ni moderadamente significativas. En el caso de los tratamientos 8.º (sin enjuague posterior), 2.º y 4.º (con enjuague suave) y 3.º y 5.º (con enjuague fuerte), aparecen diferencias a favor de los tres tratamientos primeramente citados, que no alcanzan a ser ni moderadamente significativas.

6.º Al final de la tercera semana, el podrido medio por lote en la variedad Comuna resultó ser tres veces superior al de la variedad Doblefina, en los mismos tratamientos que aquélla.

7.º En la variedad Comuna la máxima diferencia en relación con el testigo, corresponde al tratamiento sexto —4 por 100 bórax, 2 por 100 ácido bórico, con el cual se consigue al final de la tercera semana de almacenaje un control de podrido igual al 82 por 100.

En la variedad Doblefina la máxima diferencia en relación con el testigo corresponde por igual a los tratamientos 6.º y 8.º —ortofenilfenato sódico sin enjuague—, con los que se consiguió al final de la tercera semana un control del 83,3 por 100.

8.º Bajo las condiciones experimentales que se indican, en las naranjas de la variedad Comuna se observó el envejecimiento de algunos frutos al final de la cuarta semana de almacenaje; y 1,16 por 100 de los frutos sometidos a los tratamientos con ortofenilfenato sódico-hexamina—2.º, 3.º, 4.º y 5.º—presentaron quemaduras en la piel, probablemente debidas a alguna deficiencia en el enjuague.

Por el contrario, en las naranjas de la variedad Doblefina, ni en los tratamientos antes citados ni en el 8.º, se observaron quemaduras en la piel. Asimismo, en ningún caso se presentó lesión alguna por envejecimiento del fruto.

AGRADECIMIENTO.

Mucho nos complace expresar nuestra más sincero agradecimiento a quienes con su ayuda hicieron posible este pequeño trabajo.

A D. Lorenzo Vilas, por haber atendido tan amablemente cuantas peticiones le hicimos; a los investigadores norteamericanos Mr. E. F. Hopkins y Mr. K. W. Loucks, y Mr. J. F. L. Childs y Mr. E. A. Siegler, al contestar gentilmente nuestras consultas y habernos remitido separatas de sus trabajos, ayudándonos mucho en la recopilación de la bibliografía. Asimismo a don Luís Gimeno, del Instituto de Edafología, a don Juan Moragues, Profesor de este Centro, de Gandía, y al Instituto «Jaime Ferrán» de Microbiología por el trabajo de identificación de las especies. También nos prestó en todo momento una ayuda que agradecemos, don Juan Climent y el resto del personal de este Centro.

Gracias, por último, a los exportadores de esta localidad don Joaquín y don Antonio Peiró Camaró, y don Manuel Porta, por las facilidades que nos dieron para conseguir la fruta.

Instituto Laboral de Gandía.

RESUMEN

Sobre cinco mil trescientas naranjas, en dos experiencias, se estudia:

- a) El efecto que en relación con el control del podrido de las variedades Comuna y Doblefina, tienen los tratamientos aplicados.
- b) Las especies de mohos que lo ocasionan y la frecuencia con que se presentan.
- c) La resistencia que ofrecen al podrido, comparativamente, ambas variedades.

En siete tratamientos se ensayan:

El bórax comercial al 6 %, la mezcla de 4 % de bórax, 2 % de ácido bórico

FOTOS 12-19

Naranjas que quedaron sanas, en la variedad «Comuna», al final de la cuarta semana de almacenaje, en las tres repeticiones. En la parte posterior de cada lote fotografiado puede observarse el fruto que presentaba lesiones en la piel.

1.ª REPETICIÓN



Foto 12.



Foto 13.

2.^a REPETICIÓN

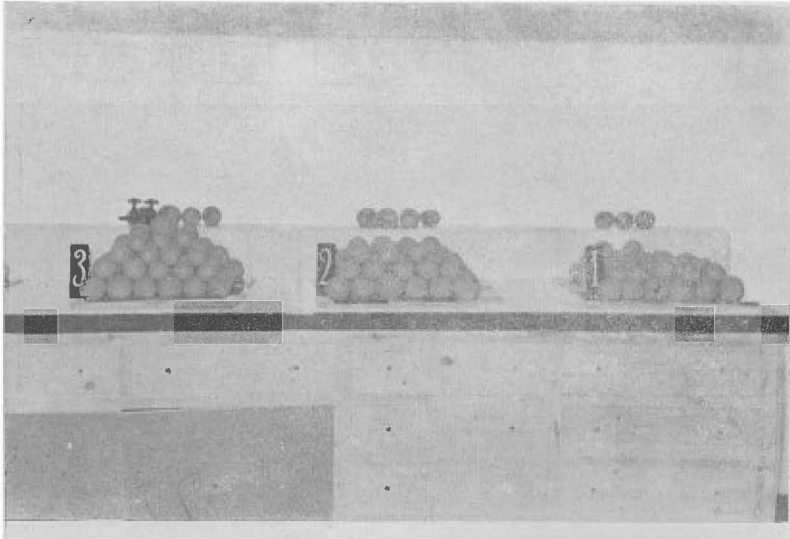


Foto 14.

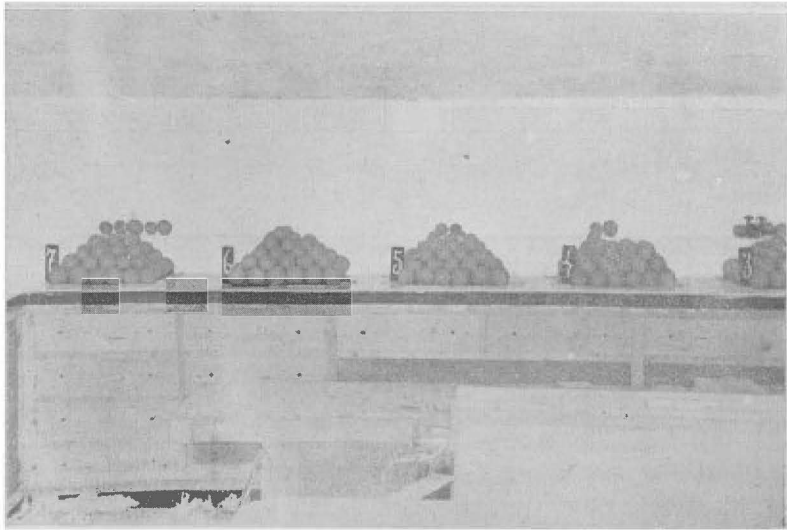
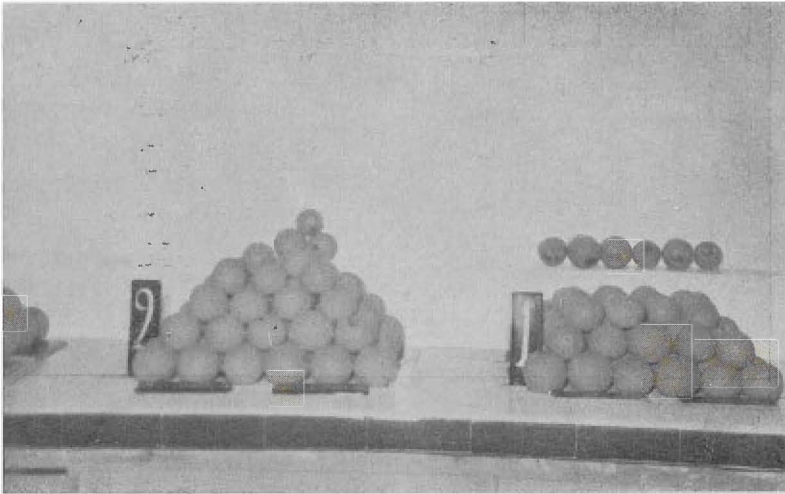
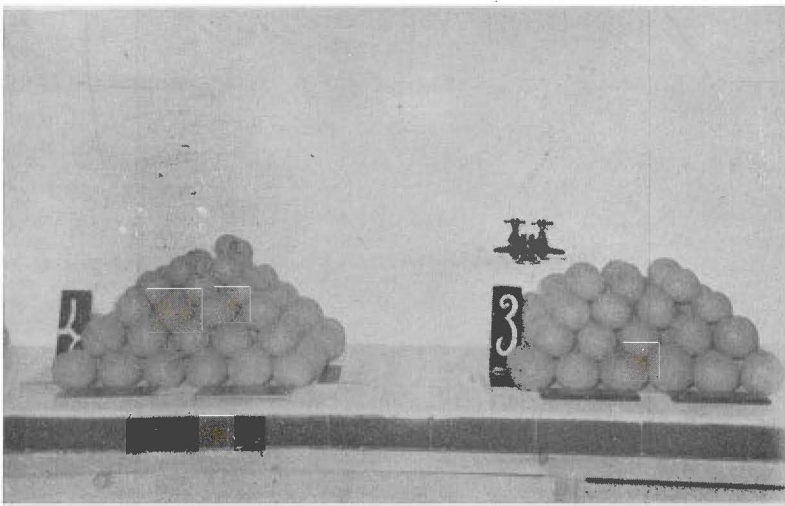


Foto 15.

3.ª REPETICIÓN



Foro 16.



Foro 17.

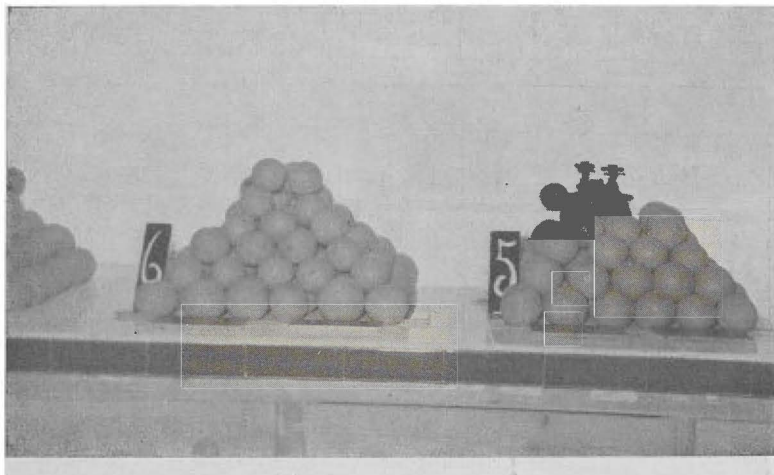


Foto 18.

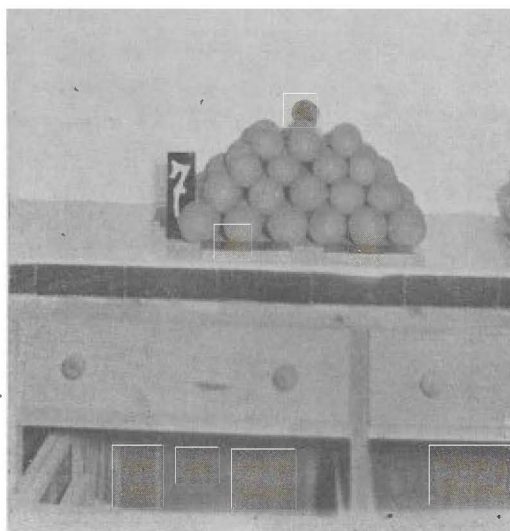


Foto 19.

FOTOS 20-35

Aspecto que presentaron los ocho lotes de cada una de las cuatro repeticiones de la experiencia correspondiente a la variedad «Doblefina», al final de la cuarta semana de almacenaje. En cada lote puede observarse a la izquierda de las naranjas sanas el fruto podrido. No hubo frutos que presentasen lesiones en la piel.

1.^a REPETICIÓN

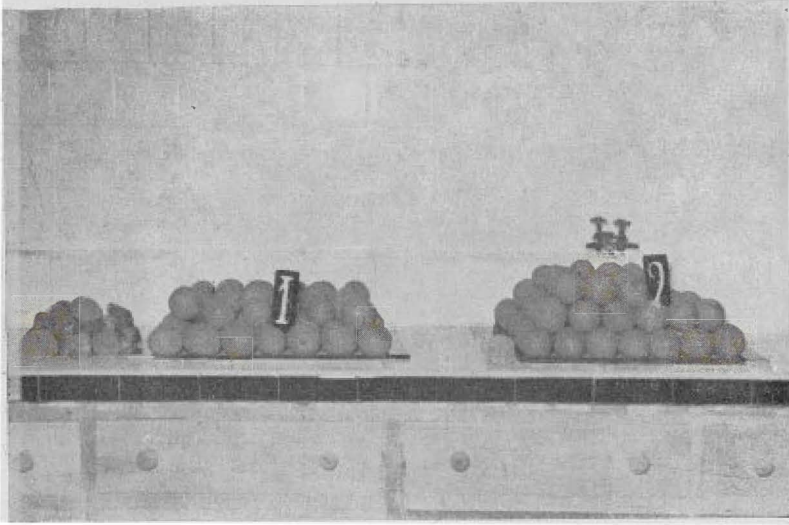


Foto 20.



Foto 21.

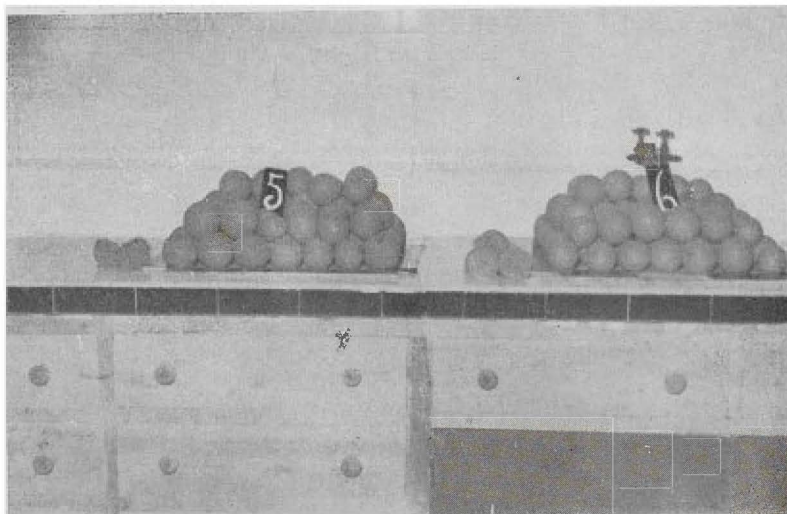


Foto 22.

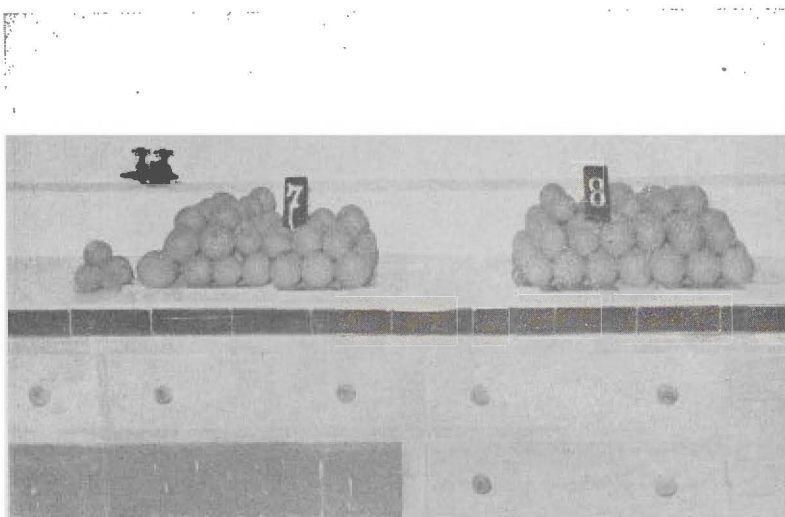


Foto 23.

2.^a REPETICIÓN



FIG. 24.

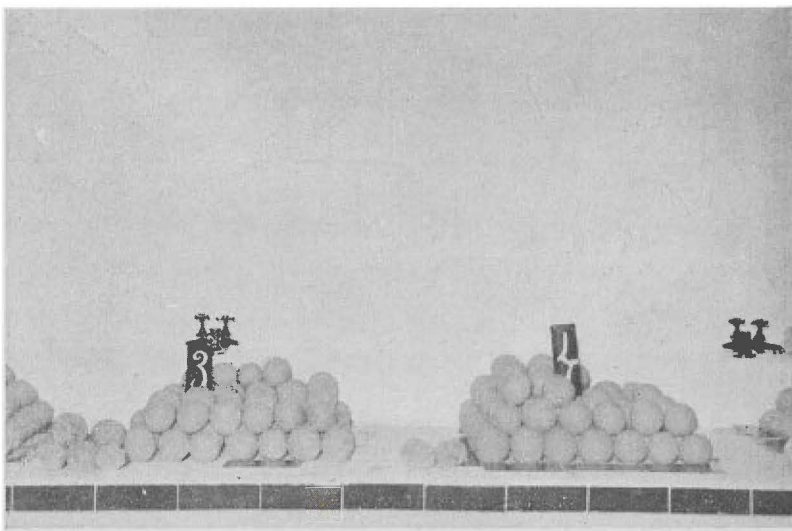


FOTO 25.

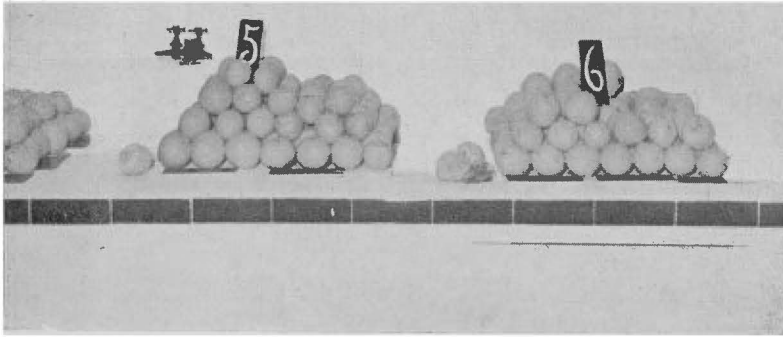


Foto 26.

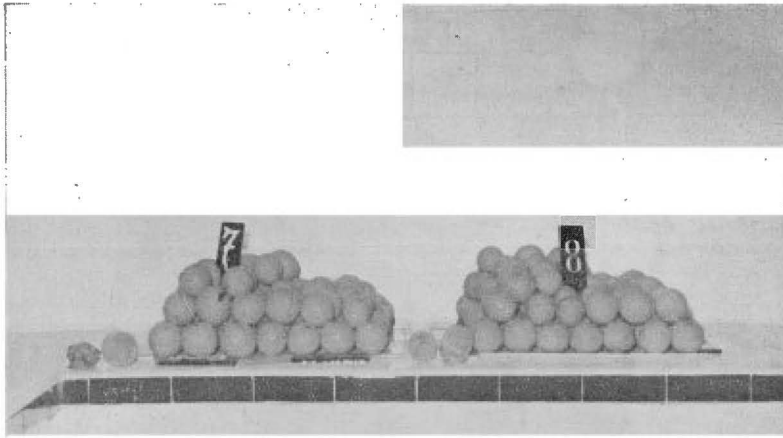


Foto 27.

3.ª REPETICIÓN

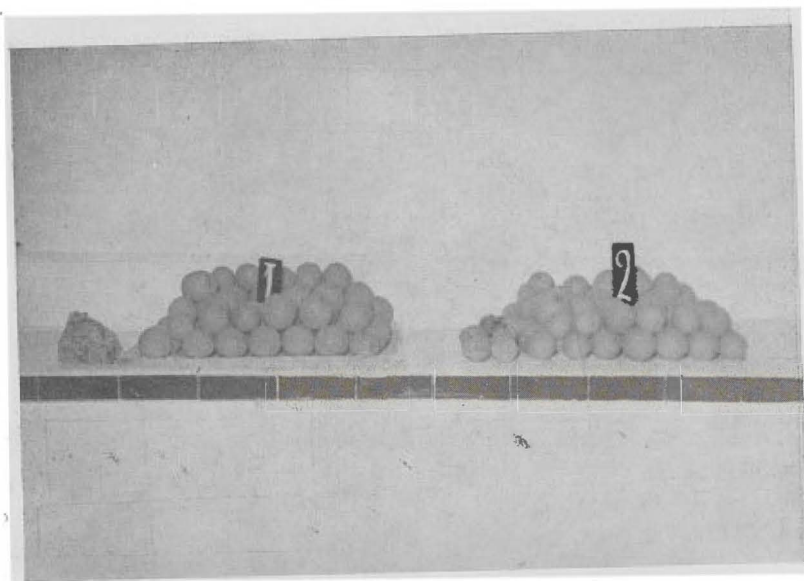


Foto 28.

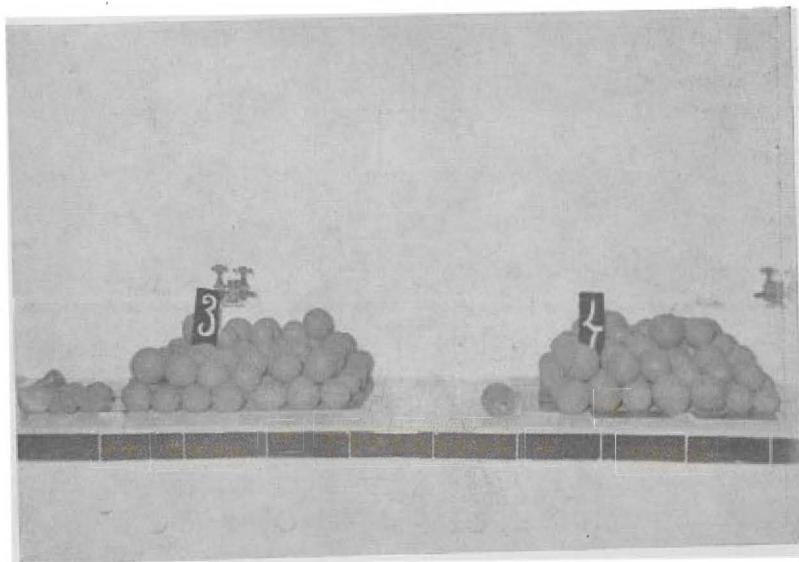


Foto 29.

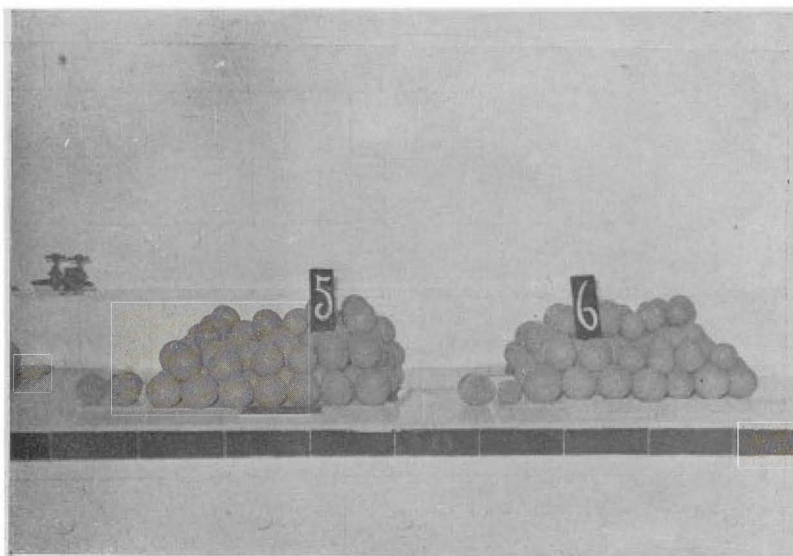


Foto 30.

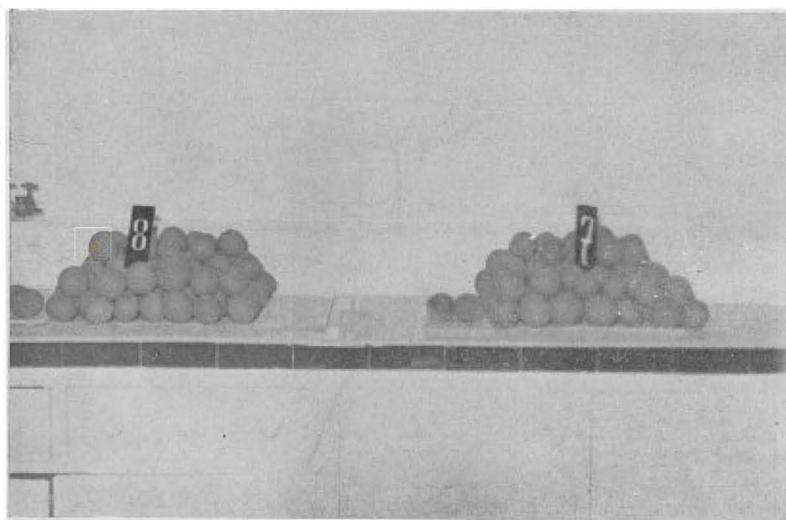


Foto 31.

4.^a REPETICIÓN

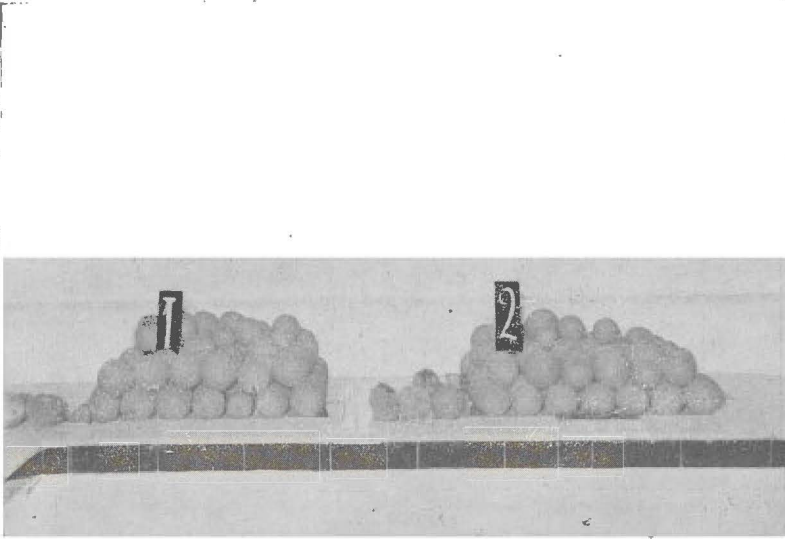


Foto 32.

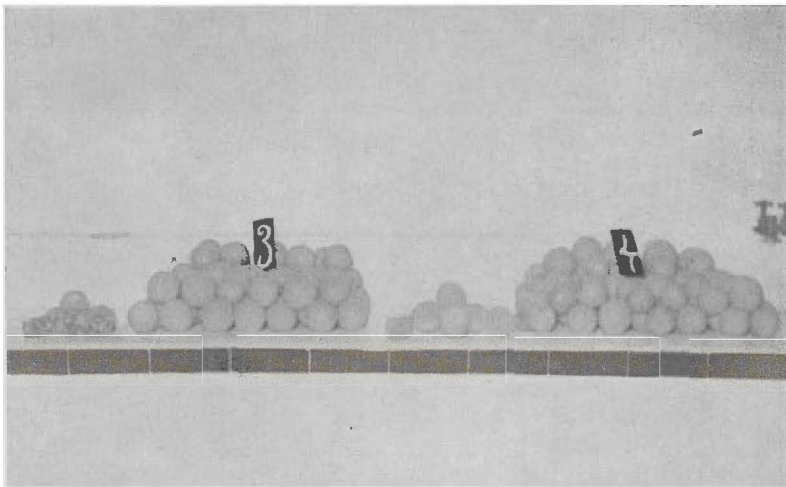


Foto 33.

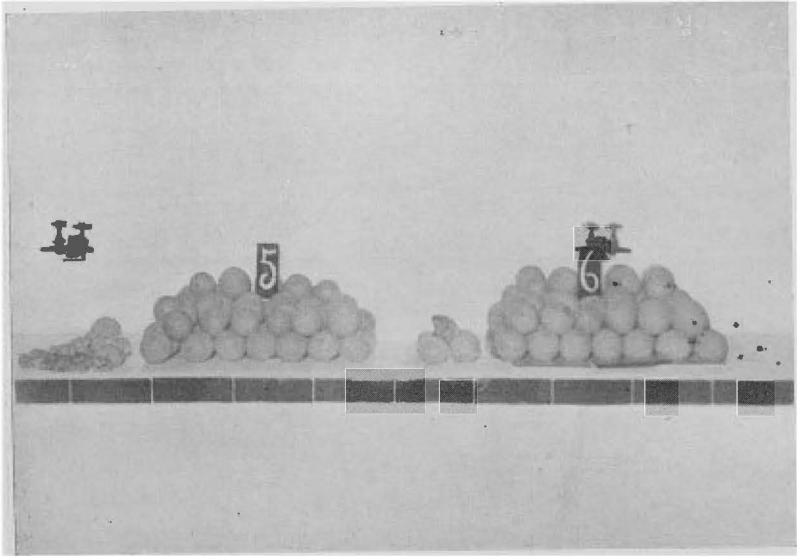


Foto 34.

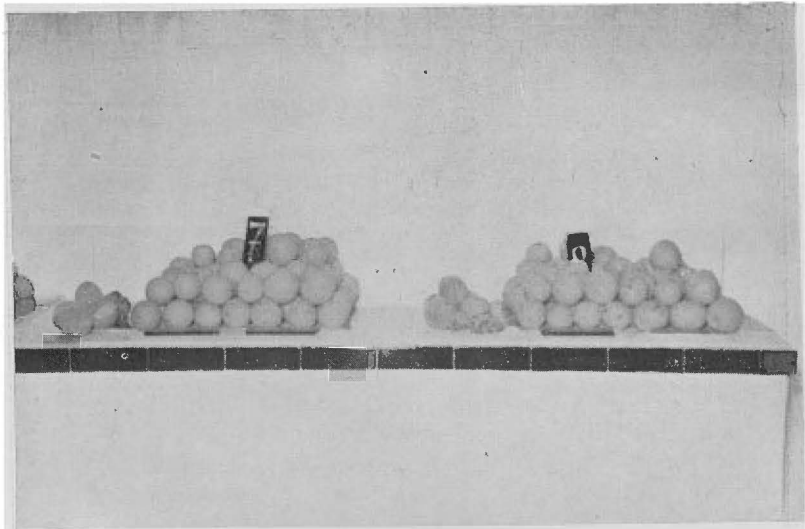


Foto 35

y varios tratamientos, en los que, bajo diversas condiciones, se emplea 2 % de ortofenilfenato sódico—1 % de hexamina—0,4 % de hidróxido sódico.

A fin de adaptar el uso del ortofenilfenato sódico-hexamina a las condiciones de trabajo reinantes en gran parte de los almacenes de confección, algunos tratamientos se hacen en baño a 15° C. y con secado natural del fruto.

Las diferencias de todos los tratamientos ensayados, en relación con el testigo, resultan, en general, estadísticamente muy significativas. Con pocas excepciones, las diferencias de los tratamientos entre sí no alcanzan a ser ni moderadamente significativas.

En la variedad Comuna las mayores diferencias en relación con el testigo corresponden al uso de la mezcla 4 % de bórax, 2 % de ácido bórico, con cuatro minutos de inmersión y 43,3-46° C. de temperatura en el baño. El control de podrido después de tres semanas de almacenaje, a la temperatura media de 20,94° C. y humedad media de 87 %, fué del 82 %. En la variedad Doblefina las mayores diferencias corresponden por igual a la mezcla anterior y al uso de ortofenilfenato sódico-hexamina, con cuatro minutos de inmersión, 15° C. de temperatura en el baño y sin enjuague posterior. En condiciones de almacenaje casi idénticas a las anteriores, con estos tratamientos se alcanza un control de podrido igual al 83,3 %.

Como especies que ocasionaron la casi totalidad del podrido, se identifican: *P. digitatum* (moho verde) y *P. italicum* (moho azul). El primero se presentó en una proporción muy superior a la del segundo.

El podrido medio en la variedad Comuna fué tres veces superior al que se produjo en la variedad Doblefina.

SUMMARY

On five thousand three hundred oranges, in two experiments, we have studied:

- a) The effect of the treatment applied, in relation with the control of decay of the varieties «Comuna» and «Doblefina».
- b) The species of mould that cause decay and the frequency of their appearance.
- c) The resistance that both varieties comparatively offer to decay.

In seven treatments we have tried out:

Commercial borax at 6 %, the mixture 4 % borax—2 % boric acid, and several treatments in which under different conditions we use 2 % sodium orthophenylphenate—1 % hexamine—0,4 % sodium hydroxide.

So as to adapt the use of sodium orthophenylphenate-hexamine to the usual working conditions of a great number of packing-houses, some of the treatments were carried out in a bath at 15° C and with natural drying of the fruit.

The differences of all the treatments tested, in relation with the check, are in general statistically very significative. With few exceptions, the differences of the treatments among themselves are not even moderately significative.

In the «Comuna» variety the greatest differences in relation with the check,

be long to the use of the mixture of 4% borax—2% boric acid and 4 minutes immersion with a temperature of the bath of 43,3-46° C. The decay control after three weeks storage with a mean temperature of 20,94° C. and mean moisture of 87%, was 83%.

In the «Doblefina» variety the greatest differences belong to the mixture mentioned above and equally to the use of sodium orthophenylphenate-hexamine, with 4 minutes immersion, 15° C. temperature of the bath and no ulterior drying. In storage conditions almost identical to the former, and these treatments we can get a decay control of 83%.

As species causing almost all the decay we could identify: *P. digitatum* (green mould) and *P. italicum* (blue mould). The former was present in a proportion much higher than the latter.

The mean decay of «Comuna» variety was three times higher than the putrefaction in «Doblefina» variety.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Instituto Valenciano de Economía. 1950. Economía citrícola.
- (2) BARKER, J. 1928. Wastage in fruit commerce (G. Brit.). Dept. Sci. and Indus. Research. Food Invest. Bd. Rpt. 1927: 38-42.
- (3) Primer Congreso Nacional de Ingeniería Agronómica. 1950. Ponencia titulada «Naranja y otros frutos de exportación». Tomo VI.
- (4) POWEL, G. H. 1908. The decay of oranges while in transit from California, U. S. Dept. Agr. Bur. Plant. Industr. 123, 79, illus.
- (5) FONT DE MORA Y LLORENS, RAFAEL. 1954. El naranjo, su cultivo, explotación y comercio. Editorial Espasa Calpe, pág. 319.
- (6) RAMSEY, H. J. 1915. Handling and shipping citrus fruits in the Gulf States, U. S. Dept. Agr. Farmers' Bul. 696: 28 págs.
- (7) ——— 1921. Need of care to prevent blue mold decay in transit. California Citrograph, 6: 170-171.
- (8) FAWCETT, H. S. 1936. Citrus diseases and their control. Second edition. 392-396.
- (9) ROSE, B. H., BROOKS, C., BRADLEY, C. O. and WINSTON, J. R. 1943. Market diseases of fruits and vegetables: citrus and other subtropical fruits. U. S. Dept. Agr. Misc. Pub. 498, 57 págs., illus.: 21.
- (10) WINSTON, J. R. 1943. Decay of Florida citrus fruits and its control. Citrus Indus. 29 (2): 5-9, 22-23, 26, illus.
- (11) KLOTZ and FAWCETT. Color Handbook of citrus diseases, págs. 1-5.
- (12) FONT DE MORA Y LLORENS, RAFAEL. 1954. El naranjo, su cultivo, explotación y comercio. Editorial Espasa Calpe, págs. 189-190.
- (13) ANONYMOUS. 1940. Research work in citrus wastage. Hadar 13: 21, 26. (Reviews work of F. Littauer.)
- (14) TOMKINS, R. G. 1939. The rotting of oranges by green mould. (Gt. Brit.) Food Invest. Bd. Rpt. 1938: 184-186, illus.

- (15) CHILDS, J. F. L. and SIEGLER, E. A. 1945. Compounds for control of orange decays, *Science* 102: 680.
- (16) ——— and SIEGLER, E. A. 1946. Controlling orange decay. *Indus. and Engin. Chem., Indus. Ed.*, 38: 82-87.
- (17) STEARNS, C. R., Jr. 1946. Packinghouse Research. *Fla. Agr. Expt. Sta. ann. Rpt. 1945-46*: 160-161.
- (18) DEAN H. ROSE, HAROLD T. COOK and W. H. REDDIT. January 1951. Harvesting, handling and transportation of citrus fruits. U. S. Dept. Agr. *Bib. Bul. n.º 13*.
- (19) PLANK, J. E. VAN DER and RATTRAY, J. M. 1939. Two new disinfectants for citrus. *Citrus Grower (So. Africa)*. Núm. 65, págs. 13-14.
- (20) HWANG, L. and KLOTZ, L. J. 1938. The toxic effect of certain chemical solutions on spores of *Penicillium italicum* and *P. digitatum*. *Hilgardia* 12: 1-38, illus.
- (21) MILLER, E. W., WINSTON, J. R. and MECKSTROTH, G. A. 1944. Studies on the use of formaldehyde and sodium ortho-phenyl-phenate in the control of decay in citrus fruits. *Citrus Indus.* 25 (10): 3, 15, 18.
- (22) GODFREY, G. H. and RYALL, A. L. 1948. The control of transit and storage decays in Texas lemons. *Agr. Expt. Sta. Bul. 701*, 24 págs., illus.
- (23) WINSTON, J. R. 1950. Harvesting and handling citrus fruits in the Gulf States. U. S. Dept. Agr. *Farmers' Bul.* 1763, 67 págs., illus.
- (24) HOPKINS, E. F. and LOUCKS, K. W. 1950. Prevention of the Phytotoxic action of Sodium Orthophenilphenate on Citrus Fruits by Hexamine. *Science*. Vol. 112, núm. 2.920, págs. 720-721.
- (25) TOMKINS, R. G. 1938-1939. *Rep. Food Invest. Board, Dep. Sci. Ind. Res. (Brit.)*, 186.
- (26) HOPKINS, E. F. and LOUCKS, K. W. 1950. Combination of Dovicide «A» with diphenil for the control of decay in citrus fruits. *Citrus Magazine*. July.
- (27) ——— and LOUCKS, K. W. August 1951. The Dovicide A-Hexamine treatment of citrus fruits for the control of mold and stem-end rot decay. *Citrus Magazine*.
- (28) ——— and LOUCKS, K. W. Florida Citrus Experiment Station (Lake Alfred). October 1953. An Improved Dovicide A-Hexamine Method... For Decay Control In Citrus Fruits.
- (29) ——— y LOUCKS, K. W. Información, particular por correspondencia.
- (30) BARGER, W. R. and HAWKINS, L. A. 1925. Borax as a disinfectant for citrus fruit. *Jour. Agr. Res.* 30: 189-192.
- (31) FULTON, H. R. and BOWMAN, J. J. 1924. Preliminary results with the borax treatment of citrus fruits for the prevention of blue mold rot. *Jour. Agr. Res.* 28: 961-968, illus.
- (32) ——— and WINSTON, J. R. 1924. Controlling blue mold rot of citrus with borax solution. *Florida Grower* 30: 7.
- (33) BROGDEN COMPANY. 1925. The succesful control of blue mold in marketing

- citrus fruits. The borax treatment and the patent situation. 49 p. Brogdex-Company.
- (34) BARGER, W. R. 1925. Treating oranges with borax solution for control of blue and green mold. Cal. Citrog. 10: 149.
 - (35) REICHERT, J. and LITTAUER, F. 1931. Preliminary disinfection experiments against mold wastage in oranges. Hadar 4 (3 & 4): 3-18.
 - (36) POWELL, H. C. 1926, en Sud Africa. The control of blue and green mold of oranges S. Agr. Fr. Grower, 8: 232.
 - (37) BENTON, R. J. 1931. Prevention of decay in oranges, Agr. Gaz. N. S. Wales, 42: 411.
 - (38) PUTERILL, V. A. 1934. Citrus wastage investigations progress report n.º 3. 1935. Union So. Africa Dept. Agr. Bul. 149: 5-27.
 - (39) WINSTON, J. R. 1935. Reducing decay in citrus fruits with borax. U. S. Dep. Agr. Tech. Bul. 488, 32 págs., illus.
 - (40) FAWCETT, H. S. 1936. Citrus diseases and their control. Second edition, pág. 397.
 - (41) TOMKINS, R. G. 1937. Trans. Brit. Mycol. Soc., 211-26.
 - (42) FIDLER, J. C. and TOMKINS, R. G. 1938. Ann. Rept. Food Investn. Bd., London, pág. 189.
 - (43) ——— FURLONG, C. R. and TOMKINS, R. G. 1939. Ibid. London, for in the press.
 - (44) Australia. 1939. Fruit storage investigations.—Citrus fruits (a) Report of citrus research officer. In Austral. Council Sci. and Indus. Res., Ann. Rep. (1938-1939), 13.
 - (45) TZERETEKI, L. Y. and TCHANTURIA, N. N. 1939. Diseases of citrus fruits in storage rots. Sovet. Bot. 1939 (3): 11-115.
 - (46) WEI, C. T. and HU., K. H. 1941. A preliminary report on the control of storage rots of sweet orange. Nanking Jour., Sect. C. 11 (3): 79-102, illus.
 - (47) HWANG, L., CHOW and CHING, I. 1946. Further study on storage experiments of kwangsi sha-tien pummelo (*Citrus Grandis osbeck*) with special reference to disease control. Kwangsi Agr. 6: 12-25. (In Chinese. English summary, págs. 23-25.)
 - (48) KLOTZ, L. J. 1954. Citrus Leaves. August.
 - (49) HOPKINS, E. F. and LOUCKS, K. W. 1943, june 30. Keeping quality of oranges. Rep. to Fla. Citrus Comm.
 - (50) ——— and LOUCKS, K. W. 1946. Some factors influencing citrus decay experiments. Citrus Industry, oct.
 - (51) FAWCETT, H. S. and BARGER, W. R. 1927. Relación entre la temperatura de crecimiento de los *P. italicum* y *P. digitatum* y el podrido de los frutos cítricos producidos por estos mohos. Jour. Agr. Res., 35: 925-931.
 - (52) SAVASTANO, G. and FAWCETT, H. S. 1929. A study of decay in citrus fruits produced by inoculations with known mixtures of fungi at different constant temperatures. Jour. Agr. Res., 39: 163-198, illus.
 - (53) TOMKINS, R. G. 1936. Ventilation and wastage from green mould in the storage of oranges. (Gt. Brit.) Food Invest. Bd. Rpt. 1936: 151.

MEDIO SELECTIVO PARA ORIENTAR LA IDENTIFICACION DE ALGUNAS BACTERIAS FITOPATOGENAS Y EN ESPECIAL DEL *PSEUDOMONAS SAVASTANOI*

por

R. VICENTE JORDANA y R. BELTRA

En esta comunicación se dedica atención al comportamiento proteolítico de la bacteria *Pseudomonas savastanoi*, agente causal de la enfermedad conocida por tuberculosis del olivo, como avance de otras investigaciones que se harán más adelante.

El objeto principal es lograr el aislamiento e identificación preliminar de dicha bacteria por un procedimiento rápido mediante la preparación de un medio especial que permita diferenciar este microorganismo de los saprofitos que le acompañan.

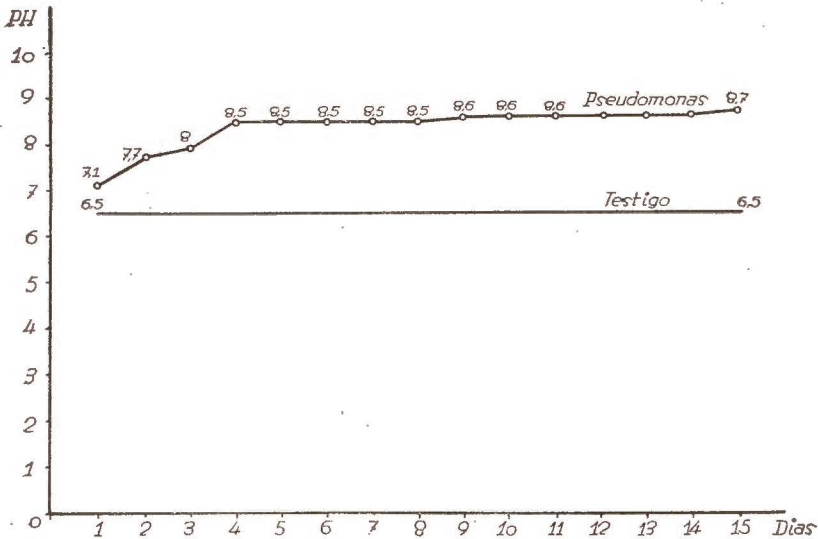
En un principio este trabajo estaba encaminado al estudio y clasificación posterior de las distintas estirpes de *Pseudomonas* que infectan los olivares españoles.

Se procedió a la recogida de tumores en distintos puntos de la Península y se realizaron las técnicas de aislamiento e identificación, logrando contar para este trabajo con distintas estirpes de *Pseudomonas savastanoi*, aisladas por nosotros, y otras varias de *Ps. savastanoi*, *Ps. pisi*, *Ps. marginalis*, *Ps. syringae* y *Ps. medicaginis*, var. *phaseolícola*, procedentes de las colecciones del doctor Dowson y la doctora D'Oliveira.

Para la identificación de la bacteria fitopatógena se había fijado el estudio de su comportamiento bioquímico en los medios usuales. Se observó que en leche tornasolada algunas bacterias procedentes

de los aislamientos hechos a partir del tumor producían una alcalinidad fuerte. Las características de estas bacterias coincidían en sus demás aspectos con la descripción del género *Pseudomonas*, algunas de cuyas especies son patógenas de plantas. De todas las estirpes aisladas en diez muestras sólo los *Pseudomonas* eran los causantes de esta acusada alcalinidad, dato que se comprobó más adelante con especies puras de colección y de otros aislamientos. Se pensó que detectando esta propiedad en presencia de lactosa y ausencia de otros azúcares, se podría obtener un dato no sólo de interés, sino de valor práctico, y utilizarse como punto de partida

VARIACIONES DEL pH A 25° EN LECHE TORMASOLADA PRODUCIDAS POR DIVERSAS ESTIRPES DE PSEUDOMONAS.



para preparar un medio selectivo aprovechando otros materiales de cultivo.

Teniendo en cuenta que cuando las bacterias son activamente sacarolíticas la producción de ácidos por fermentación puede neu-

tralizar y enmascarar su acción sobre las proteínas, se limitó el número de azúcares sensibles para destacar el proceso de descomposición proteolítica.

En el caso que nos ocupa se comenzó por estudiar la alcalinidad producida por estas bacterias en leche tornasolada. Para ello se midió con un potenciómetro durante quince días la alcalinidad progresiva producida por los cultivos de 17 estirpes bacterianas de *Pseudomonas* en leche tornasolada y se trazaron las curvas representativas de la variación de pH. Una curva tipo de esta variación está representada en la gráfica adjunta.

Las conclusiones que se sacaron de estas medidas nos indicaron que los *Pseudomonas* estudiados producen una elevación relativamente rápida de la alcalinidad, que alcanza su máximo entre el quinto y sexto día de incubación a 24°. La mayoría de las estirpes estudiadas lo alcanzan en el quinto día.

Al llegar el pH de 8 a 8,5, que podríamos llamar máximo, la alcalinidad se mantiene casi constante, pues si hay variaciones son inapreciables.

Tras estas experiencias se buscó un indicador que virase entre los pH mencionados y nos diera con claridad ese punto.

Medio ortocresol-lactosa.—Se han hecho varias pruebas con diversos indicadores, principalmente azul de timol, que vira en medio alcalino a pH 8-9,6, y ortocresoltaleína, que lo hace a pH 8,2-9,8, dando, respectivamente, los colores azul y rojo. Se utilizaron inicialmente como medios base: leche desnatada, caseína y lactosa, etc. No se obtuvieron buenos resultados hasta que se utilizó caldo normal. Se agregó lactosa en determinada proporción, y como indicador, ortocresoltaleína, que fué, por su comportamiento satisfactorio, el elegido como indicador definitivo.

En un principio se comprobó también la posible acción bactericida de los indicadores mediante su adición al medio en cantidades variables. Pudo observarse que el indicador ortocresoltaleína en la proporción del 0,1-0,4 por 1000 no tenía ese efecto; mas bien parecía estimular el crecimiento de las bacterias.

La adición de lactosa al medio tiene por objeto poner de manifiesto si la bacteria sembrada tiene un poder proteolítico fuerte o si el sacarolítico es más predominante. Este azúcar no es hidrolizado por los *Pseudomonas*. Las bacterias estudiadas tienen con

las proteínas del caldo materia prima suficiente para producir un aumento de la alcalinidad, y, por tanto, el viraje del medio si usamos un indicador apropiado.

El ajuste y sensibilización del método será publicado próximamente. Como avance se puede decir que los mejores resultados que por ahora se han obtenido lo han sido partiendo de un caldo normal a pH 7 que contiene 1-2 por 100 de lactosa y 0,3-0,4 gramos por 1000 del indicador ortocresolftaleína solubilizado al 2 por 100 en NaOH 1N.

A los seis-ocho días de la siembra la alcalinidad producida se acusa por un cambio del indicador al color rojo.

Las pruebas realizadas han dado los resultados apetecidos, y se considera que el medio ortocresol-lactosa puede ser útil para la identificación preliminar de determinadas bacterias patógenas de plantas, especialmente del género *Pseudomonas*. Se puede utilizar para orientar la identificación del *Ps. savastanoi* a partir de los aislamientos de los tumores, con lo que queda sensiblemente reducido el trabajo de selección de las estirpes separadas.

INSTITUTO DE EDAFOLOGÍA Y FISIOLOGÍA VEGETAL
Sección de Microbiología de Madrid

RESUMEN

Se da cuenta de la preparación de un medio selectivo para orientar el diagnóstico del *Ps. savastanoi* por medio del indicador ortocresolftaleína, que acusa la alcalinidad producida por la actividad proteolítica de la bacteria en presencia de lactosa.

SUMMARY

A selective method for *Ps. savastanoi*, and possible to use for other *Pseudomonas*, is described in order to give a preliminar diagnostic at the first stages of the isolation.

Alcalinity is detected by the o-cresolphthalein in a lactose medium.

NOTAS

ESTANCIA DEL PROFESOR ARNON

Invitado por el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, ha llegado a Madrid en los últimos días del presente mes, el Prof. D. I. Arnón, del Departamento de Nutrición de Plantas de la Universidad de California (Berkeley), y figura destacada dentro del campo de la fotosíntesis. Doctorado en 1936 por la Universidad citada, el Prof. Arnón dictó sus lecciones en la Universidad de Stanford durante el periodo 1943-46 y en el año actual ha sido Investigador invitado en el Instituto Max Plank de Fisiología Vegetal, donde ha colaborado con el Prof. Warbug. Es autor de más de setenta trabajos de investigación, en su mayoría sobre micronutrientes y enzimas vegetales y su relación con la fotosíntesis, y editor de la «Annual Review of Plant Physiology». Asimismo ha recibido el premio Newcombe de la Asociación Americana para el Progreso de las Ciencias y ha sido Presidente de la Sociedad Americana de Fisiología Vegetal.

Presentado por el Prof. Albareda, pronunció una conferencia en el INSTITUTO DE EDAFOLOGÍA el día 28 del corriente mes con el tema «Localization of Photosynthesis in isolate cellular particles». En ella dió cuenta de los recientes experimentos llevados a cabo en su laboratorio que han permitido obtener con cloroplastos aislados y sin ayuda de otro sistema enzimático, un proceso fotosintético completo *in vitro*.

PENSIONADO

Por el «Institute of International Education», de Estados Unidos de América del Norte, ha sido pensionado el Dr. José M.^a Serratos Márquez, Colaborador del INSTITUTO DE EDAFOLOGÍA Y FISIOLÓGIA VEGETAL, para trabajar en la Universidad de Illinois sobre Coloidequímica de arcillas.

REVISTA DEL FRÍO

El Centro Experimental del Frío del Patronato «Juan de la Cierva» de Investigación Técnica, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, ha iniciado la publicación de la «Revista del Frío», órgano oficial del mismo.

Su periodicidad es trimestral, siendo su primer número el correspondiente a enero-marzo de 1956, y abarca en sus diferentes secciones los diversos aspectos del frío industrial en sus numerosas aplicaciones.

Esta Revista viene a cubrir la necesidad sentida en nuestro país de difundir, entre otras, las técnicas de conservación de alimentos por el frío, que tanta importancia tienen debido a las características de nuestro clima y de nuestras producciones.

Para toda información referente a suscripciones, colaboraciones y publicidad en dicha Revista, dirigirse al Centro Experimental del Frío, Serrano, 150, Madrid.

BIBLIOGRAFIA

- F. BURRIEL MARTI y J. RAMÍREZ MUÑOZ: *Fotometría de llama*.— 1955, Madrid (2 tomos). Monografías de Ciencia Moderna, del C. S. I. C.

El análisis químico va sufriendo una honda transformación como consecuencia de las necesidades crecientes de rapidez, exactitud o sensibilidad presentadas por las distintas ramas de la ciencia aplicada. Estos requerimientos pueden ser atendidos gracias a métodos nuevos, en que se utiliza la medida de una magnitud física o fisicoquímica relacionada con la cantidad existente en la muestra de un componente concreto. Entre estos métodos, la espectrometría de emisión ocupa desde hace tiempo un lugar de excepcional importancia, lugar limitado, en muchos casos, por lo complejo y costoso de su instrumental o lo delicado de sus técnicas. La técnica inicial se ha ido modificando, adquiriendo un manejo más simple, casi siempre a costa de una mayor complicación en el instrumental. La fotometría de llama representa, sin embargo, una derivación que ofrece las dos sugestivas ventajas de simplificación del instrumental y del método operatorio. Su éxito y grado de extensión han crecido considerablemente en los últimos años, especialmente para el análisis de alcalinos y alcalino térreos. En el campo de la Edafología pura y aplicada, sus aplicaciones son múltiples en la determinación de potasio, sodio y calcio en plantas, fertilizantes y suelos, en forma total, asimilable o de cambio. Técnica tan sugestiva no había sido descrita hasta ahora con el detenimiento y detalle aconsejables. La obra de Mavrodineanu y Boiteux, recientemente reseñada en estos ANALES y algunas memorias y trabajos recopilativos no llenaban una laguna evidente en la literatura científica mundial. Por esta razón, la obra de los Dres. Bu-

riel y Ramírez viene a ocupar un lugar de notable importancia no sólo en la bibliografía de los países de lengua española, sino también en la de todo el mundo.

La monografía que comentamos, que no aspira a ser exhaustiva, contiene todo aquello que necesita conocer tanto el que se inicia en esta técnica como el que ya lleva cierto tiempo empleándola en análisis en serie.

En el tomo I, y tras un capítulo de introducción sobre generalidades, se pasa al capítulo II, en el que se hace un estudio de las distintas fases envueltas en la fotometría de llama (excitación, selección de la longitud de onda y métodos de medida), y tras este estudio aislado se pasa al de los fotómetros comerciales y no comerciales. El capítulo III está dedicado a los métodos experimentales (soluciones patrón, práctica de la medida y curvas de calibrado). El capítulo IV trata de las perturbaciones e interferencias, errores que producen y correcciones posibles.

El tomo II es eminentemente práctico y se inicia con un primer capítulo dedicado a la consideración de las aplicaciones de la fotometría de llama, su selectividad y su sensibilidad. En el capítulo II se consideran los distintos tipos de fotometría de llama, incluyendo un estudio detenido e interesante sobre la fotometría de llama indirecta. Los capítulos III y IV se dedican muy concretamente a las aplicaciones analíticas de esta técnica. Se consideran los métodos generales de preparación de la muestra y, finalmente, se describen las aplicaciones de la técnica en distintos tipos de materiales, incluidos entre ellos minerales y rocas, fertilizantes, plantas y suelos.

Réstanos por destacar como características valiosas de esta obra el equilibrio entre la parte teórica y práctica, su puesta al día y el gran número de citas bibliográficas incluidas. Todo ello hace que deba considerarse obra esencial en la biblioteca de toda persona conectada directa o indirectamente con la fotometría de llama.—*F. Lucena-Conde.*

OTRAS REVISTAS DEL PATRONATO «ALONSO DE HERRERA»

Anales de la Estación Experimental de «Aula Dei».—Revista dedicada a la publicación de trabajos originales sobre investigación agrícola y problemas biológicos relacionados con la misma. Publicada por la Estación Experimental de «Aula Dei», Zaragoza.

Cada volumen, excepto vol. 1, contiene unas 300 páginas, distribuidas en cuatro números, que se publican a intervalos irregulares.

Anales del Instituto Botánico «A. J. Cavanilles».—Publicación del Instituto «Antonio J. Cavanilles».

Publica trabajos y notas científicas que abarcan todos los campos de la Botánica. Precio del tomo anual, 100 pesetas.

Archivos de Zootecnia.—Recoge los trabajos de investigación del Departamento de Zootecnia, dedicado a la industria ganadera.

Trimestral. Ejemplar, 30 pesetas. Suscripción, 100 pesetas.

Collectánea Botánica.—Publicación del Instituto Botánico de Barcelona.

Dedicada a la Botánica en general, viene a ser un órgano exterior de la actividad del Instituto Botánico de Barcelona, elemento de enlace con los demás centros de investigación.

Publica trabajos sobre las distintas disciplinas de la Botánica: sistemática, florística, fitosociología, fisiología, micología, briología, algología, etc.

Dedica una parte a reseñas bibliográficas y a la información.

Semestral. Ejemplar, 45 pesetas. Suscripción, 90 pesetas.

Farmacognosia.—Publicación del Instituto «José Celestino Mutis».

Esta revista está dedicada al estudio de los problemas de Farmacognosia, siendo sus finalidades, una, propiamente científica, que trata de botánica, análisis químico, experimentación fisiológica y clínica, y otra de orden práctico, relativa al cultivo y recolección de materias primas idóneas, no sólo para la Medicina, sino para la Dietética y la Industria.

Trimestral. Ejemplar, 25 pesetas. Suscripción, 80 pesetas.

Genética Ibérica.—Publicación del Laboratorio de Citogenética del Instituto «José Celestino Mutis».

Publica trabajos sobre Citología, Citogenética y Genética de los diversos materiales que constituyen el tema específico de investigación en los distintos Centros colaboradores de la revista, en España y Portugal, y los relacionados con la mejora de las especies vegetales que interesan en la Farmacognosia.

Trimestral. Ejemplar, 20 pesetas. Suscripción, 70 pesetas.

Microbiología Española.

En esta revista aparecen originales microbiológicos españoles y extranjeros, siendo el órgano de publicación de los trabajos leídos en las reuniones de la Sociedad de Microbiólogos Españoles y de los efectuados en el Instituto «Jaime Ferrán», de Microbiología.

Trimestral. Ejemplar, 22 pesetas. Suscripción, 80 pesetas.

DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
ANALES DE EDAFOLOGÍA Y FISIOLÓGIA VEGETAL

Tommo XV. Nám. 6 ANALES DE BOTANICA Y FISIOLÓGIA YEGETAAL 1956