

ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN LA NODULACION Y CRECIMIENTO
DE LAS LEGUMINOSAS EN LOS TROPICOS

Por

CARLOS ESQUIVEL ALCAZAR

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O.E.A.

Turrialba - Costa Rica

Febrero, 1963

ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN LA NODULACION Y CRECIMIENTO
DE LAS LEGUMINOSAS EN LOS TROPICOS

Tesis

Presentada al Consejo de la Escuela para Graduados
como requisito parcial para optar al grado

de

Magister Agriculturae

en el

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O.E.A.

AFROBADA:

 Dudwig Kuhl

Consejero

 Arthur T. Semple

Comité

 J. Hardy

Comité

Febrero, 1963

- A la memoria de mi querido -
hermano Alfonso

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi sincero y cordial agradecimiento:

Al Dr. Ludwig Müller, patrocinador entusiasta de la presente tesis y cuya decidida y continua ayuda en la ejecución de la misma hizo posible llegar a feliz término.

A los miembros de mi Comité Consejero: Profesores Arthur T. Semple y Frederick Hardy, por sus consejos y ayuda.

Al Dr. Carl C. Moh, miembro del Departamento de Energía Nuclear del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, cuya ayuda material hizo posible realizar este trabajo.

Al Dr. D. H. Gross, ex-miembro de la Misión Agrícola de la Universidad de Carolina del Norte de los Estados Unidos en el Perú, a cuya iniciativa se debió mi beca de estudios.

A los directores y jefes del Servicio de Investigación y Promoción Agraria del Perú, que tuvieron a bien considerarme como miembro activo del personal técnico durante el período de mis estudios.

A la señorita Vera Jiménez por su colaboración en el trabajo manuscrito de la tesis.

A aquellos miembros del Instituto que prestaron su gentil colaboración para llevar a cabo el presente trabajo.

De un modo especial a la U.S.A.I.D./Perú por haberme otorgado la beca para efectuar estudios postgraduados en el I.I.C.A.

BIOGRAFIA

El autor nació en la Ciudad del Cuzco, Perú, el 12 de octubre de 1932. Hizo sus primeros estudios en el Colegio Nacional Francisco Bolognesi de la Ciudad de Tacna y los secundarios en el Colegio Militar Leoncio Prado de La Punta - Callao.

En 1952 ingresó a la Escuela Nacional de Agricultura "La Molina" en Lima, de donde egresó el año 1956; graduándose de Ingeniero Agrónomo en 1958.

De 1957 a 1958 trabajó con la Compañía de Irrigación "Josue Grande" de la Ciudad de Tacna.

De 1958 a 1960 trabajó en la Estación Experimental "La Molina" en Lima, como Asistente del Programa Nacional de Forrajes.

De 1960 a 1961 trabajó en la Estación Experimental de Junín - Huancayo, como Encargado del Programa de Forrajes de la zona centro del país.

En julio de 1961 ingresó al Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas para realizar estudios postgraduados en el Departamento de Fitotecnia y Suelos mediante una beca concedida por U.S.A.I.D./Perú, egresando en febrero de 1963.

TABLA DE CONTENIDO

	<u>Página</u>
LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	xii
INTRODUCCION	1
REVISION DE LITERATURA	3
I. <u>Stylosanthes gracilis</u>	3
A. Centro de origen y área de dispersión	3
B. Características	4
II. <u>Leucaena glauca</u>	5
A. Centro de origen y área de dispersión	5
B. Características	6
III. Nodulación	8
A. Desarrollo y función de los nódulos	8
B. Multiplicación de <u>Rhizobium</u> y disponibilidad de la planta huésped para la infección	9
C. Crecimiento de los nódulos	11
D. Simbiosis y el problema de la inoculación cruzada . .	13
E. Factores físicos que afectan la nodulación	15
F. Factores químicos que afectan la nodulación	16
1. Nitrógeno	16
2. Calcio, magnesio y pH	17
IV. Influencia de la nutrición mineral sobre la fijación de nitrógeno y crecimiento de las leguminosas	19
A. Factores responsables de la deficiencia de nitrógeno .	19
B. Acidez del suelo y concentración del ion hidrógeno . .	20
C. pH y <u>Rhizobium</u> , pH y la absorción de nutrientes . . .	21
D. Calcio	22
E. Molibdeno	25
F. Boro	27
MATERIALES Y METODOS	29
I. Ubicación de los experimentos	29
II. Material vegetativo usado y siembra	29
III. Diseño de los experimentos	30
A. Experimento N ^o 1	30
B. Experimento N ^o 2	31
C. Experimento N ^o 3	31
D. Disposición de las macetas	32

	<u>Página</u>
IV. Descripción del suelo usado	35
V. Análisis de laboratorio realizados	36
VI. Toma de datos	36
VII. Conteo de nódulos	37
VIII. Análisis estadísticos	38
RESULTADOS	39
I. Resultados de los análisis de laboratorio	39
II. Observaciones efectuadas en el transcurso de los experi- mentos	44
A. Germinación y emergencia de las plántulas	44
B. Sintomatología de las deficiencias observadas	45
C. Número de hojas y ramas.	46
D. Observaciones efectuadas en los nódulos	46
III. Efecto de los tratamientos en las diferentes especies pro- badas	47
A. <u>Stylosanthes gracilis</u>	47
1. <u>Suelo</u>	47
a. Parte aérea a los 60 y 90 días de crecimiento	47
i. Altura del vástago en ambas épocas de corte	47
ii. Diámetros de los tallos en ambas épocas de corte	48
iii. Promedios de peso fresco en ambas épocas de corte	50
iv. Promedio de peso seco en ambas épocas de corte	51
b. Efecto de las medidas tomadas en las raíces a los 60 y 90 días de crecimiento	58
i. Longitud promedio de las raíces alcanzada en ambas épocas de corte	58
ii. Promedio de peso fresco de las raíces a los 60 y 90 días de corte	58
iii. Promedio de peso seco de las raíces en ambas épocas de corte	59
c. Efecto de los tratamientos sobre el número, tamaño, peso fresco y peso seco de los nódulos	66
i. Número y tamaño de los nódulos en ambas épocas de corte	66
ii. Peso fresco y seco de los nódulos en ambas épocas de corte	67

	<u>Página</u>
2. Subsuelo	70
a. Parte aérea a los 60 y 90 días de crecimiento . .	70
i. Altura del vástago en ambas épocas de corte	70
ii. Diámetro de los tallos en ambas épocas de corte	70
iii. Promedio de peso fresco en ambas épocas de corte	71
iv. Promedio de peso seco en ambas épocas de corte	72
b. Comportamiento de las raíces a los 60 y 90 días de crecimiento	79
i. Longitud de las raíces en ambas épocas de corte	79
ii. Promedio de peso fresco de las raíces en las dos épocas de corte	79
iii. Promedio de peso seco de raíces en ambas épocas de corte	80
c. Efecto de los tratamientos sobre el número, tamaño, peso fresco y peso seco de los nódulos	86
i. Número y tamaño de los nódulos en ambas épocas de corte	86
ii. Peso fresco y seco de los nódulos en ambas épocas de corte	87
B. <u>Leucaena glauca</u>	90
1. Parte aérea a los 90 días de crecimiento en suelo	90
a. Altura alcanzada por los vástagos	90
b. Diámetro de los vástagos	90
c. Promedio de peso fresco	91
d. Promedio de peso seco	91
2. Efecto sobre las medidas tomadas en las raíces, a los 90 días de crecimiento en suelo de Paraíso . .	92
a. Longitud de las raíces	92
b. Peso fresco promedio de las raíces	93
c. Peso seco promedio de las raíces	93
3. Efecto de los tratamientos sobre el número y tamaño, peso fresco y seco de los nódulos	100
a. Número y tamaño de los nódulos a los 90 días	100
b. Peso fresco y seco de los nódulos	101

LISTA DE CUADROS

<u>Cuadro N°</u>		<u>Página</u>
1	Fertilizantes y sales usadas para <u>Stylosanthes gracilis</u> y <u>Leucaena glauca</u>	33
2	Sales usadas para <u>Stylosanthes guayanensis</u>	34
3	Resultados de los análisis de suelo y subsuelo de la Serie de Paraíso	40
4	Análisis de variancia de los promedios de altura, diámetro, peso fresco, peso seco del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 60 días	52
5	Análisis de variancia de los promedios de altura, diámetro, peso fresco, peso seco del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 90 días	53
6	Límite de significación para los promedios de altura en cm. de los tallos de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 60 días	54
7	Límite de significación para los diámetros promedio en mm. de los tallos de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 60 días	54
8	Límite de significación para los promedios de altura en cm. de los tallos de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 90 días	55
9	Límite de significación para los diámetros promedio en mm. de los tallos de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 90 días	55
10	Límite de significación para los promedios de peso fresco en g. del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 60 días	56
11	Límite de significación para los promedios de peso seco en g. del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 60 días	56
12	Límite de significación para los promedios de peso fresco en g. del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 90 días	57
13	Límite de significación para los promedios de peso seco en g. del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 90 días	57

Cuadro N°

Página

14	Análisis de variancia de los promedios de longitud, peso fresco, peso seco de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 60 días	61
15	Análisis de variancia de los promedios de longitud, peso fresco, peso seco de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 90 días	62
16	Límite de significación para los promedios de longitud en cm. de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 60 días	63
17	Límite de significación para los promedios de peso fresco en g. de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 60 días	63
18	Límite de significación para los promedios de peso seco en g. de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 60 días	64
19	Límite de significación para los promedios de altura en cm. de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 90 días	64
20	Límite de significación para los promedios de peso fresco en g. de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 90 días	65
21	Límite de significación para los promedios de peso seco en g. de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Suelo -- Corte de 90 días	65
22	Cuadro comparativo de promedios de las medidas tomadas en la especie <u>Stylosanthes gracilis</u> en suelo	68
23	Análisis de variancia de los promedios de altura, diámetro, peso fresco, peso seco del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 60 días	73
24	Análisis de variancia de los promedios de altura, diámetro, peso fresco, peso seco del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 90 días	74
25	Límite de significación para los promedios de altura en cm. del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 60 días	75
26	Límite de significación para los promedios de diámetro en mm. del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 60 días	75
27	Límite de significación para los promedios de peso fresco en g. del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 60 días	76

<u>Cuadro N°</u>		<u>Página</u>
28	Límite de significación para los promedios de peso seco en g. del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 60 días	76
29	Límite de significación para los promedios de altura en cm. del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 90 días	77
30	Límite de significación para los promedios de diámetro en mm. del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 90 días	77
31	Límite de significación para los promedios de peso fresco en g. del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 90 días	78
32	Límite de significación para los promedios de peso seco en g. del vástago de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 90 días	78
33	Análisis de variancia de los promedios de longitud, peso fresco, peso seco de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 60 días	81
34	Análisis de variancia de los promedios de longitud, peso fresco, peso seco de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 90 días	82
35	Límite de significación para los promedios de longitud en cm. de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 60 días	83
36	Límite de significación para los promedios de peso fresco en g. de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 60 días	83
37	Límite de significación para los promedios de peso seco en g. de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 60 días	84
38	Límite de significación para los promedios de longitud en cm. de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 90 días	84
39	Límite de significación para los promedios de peso fresco en g. de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 90 días	85
40	Límite de significación para los promedios de peso seco en g. de las raíces de <u>Stylosanthes gracilis</u> . Subsuelo -- Corte de 90 días	85

<u>Cuadro N^o</u>		<u>Página</u>
41	Cuadro comparativo de promedios de las diversas medidas tomadas en la especie <u>Stylosanthes gracilis</u> en subsuelo	88
42	Análisis de variancia de los promedios de altura, diámetro, peso fresco, peso seco del vástago de <u>Leucaena glauca</u> . Suelo -- Corte de 90 días	94
43	Análisis de variancia de los promedios de longitud, peso fresco, peso seco de las raíces de <u>Leucaena glauca</u> . Suelo -- Corte de 90 días	95
44	Límite de significación para los promedios de altura en cm. de los tallos de <u>Leucaena glauca</u> . Suelo -- Corte de 90 días	96
45	Límite de significación para los diámetros promedio en mm. de los tallos de <u>Leucaena glauca</u> . Suelo -- Corte de 90 días	96
46	Límite de significación para los promedios de peso fresco en g. del vástago de <u>Leucaena glauca</u> . Suelo -- Corte de 90 días	97
47	Límite de significación para los promedios de peso seco en g. del vástago de <u>Leucaena glauca</u> . Suelo -- Corte de 90 días	97
48	Límite de significación para los promedios de longitud en cm. de las raíces de <u>Leucaena glauca</u> . Suelo -- Corte de 90 días	98
49	Límite de significación para los promedios de peso fresco en g. de las raíces de <u>Leucaena glauca</u> . Suelo -- Corte de 90 días	98
50	Límite de significación para los promedios de peso seco en g. de las raíces de <u>Leucaena glauca</u> . Suelo -- Corte de 90 días	99
51	Cuadro de promedios de los resultados obtenidos con <u>Leucaena glauca</u> a los 90 días de crecimiento en suelo de Paraíso	102
52	Cuadro de promedios de los resultados del experimento con <u>Stylosanthes guayanensis</u> a los 80 días de crecimiento en suelo y subsuelo de Paraíso	112
53	Análisis de variancia de los promedios de peso seco de la raíz, porcentaje de nitrógeno del vástago y de las raíces de <u>Stylosanthes guayanensis</u> . Suelo -- Corte de 80 días	113

Cuadro N°

Página

54	Análisis de variancia de los promedios de peso seco de la raíz, porcentaje de nitrógeno del vástago y de las raíces de <u>Stylosanthes guayanensis</u> . Subsuelo — Corte de 80 días	113
55	Análisis de variancia de los promedios de peso seco del vástago de <u>Stylosanthes guayanensis</u> que crecieron en suelo y subsuelo	114
56	Prueba de Duncan para los promedios de peso seco del vástago de <u>Stylosanthes guayanensis</u> en suelo de Paraíso, al nivel del 5%	114
57	Prueba de Duncan para los promedios de peso seco de raíces de <u>Stylosanthes guayanensis</u> en suelo, al nivel del 5%	114
58	Prueba de Duncan para los promedios de porcentaje de nitrógeno contenido en vástago de <u>Stylosanthes</u> en suelo, al nivel del 5%	115
59	Prueba de Duncan para los promedios de porcentaje de nitrógeno contenido en raíces de <u>Stylosanthes</u> en suelo, al nivel del 5%	115
60	Prueba de Duncan para los promedios de peso seco del vástago de <u>Stylosanthes</u> en subsuelo, al nivel del 5%	115
61	Prueba de Duncan para los promedios de peso seco de raíces de <u>Stylosanthes guayanensis</u> en subsuelo, al nivel del 5%	116
62	Prueba de Duncan para los promedios de porcentaje de nitrógeno contenido en vástago de <u>Stylosanthes</u> en subsuelo, al nivel del 5%	116
63	Prueba de Duncan para los promedios de porcentaje de nitrógeno contenido en raíces de <u>Stylosanthes</u> en subsuelo, al nivel del 5%	116

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura N°</u>		<u>Página</u>
1	<u>Stylosanthes gracilis</u> a los 60 días de crecimiento, tratamientos de izquierda a derecha: testigo, completo más inóculo en subsuelo; testigo más cal, completo más inóculo suelo	41
2	<u>Leucaena glauca</u> a los 60 días de crecimiento, tratamientos de izquierda a derecha: testigo más cal 1, testigo más cal 2, completo más cal 2, completo más cal 1	41
3	<u>Stylosanthes gracilis</u> , izquierda: sistema radical testigo subsuelo; derecha: completo más cal -- boro suelo .	42
4 y 5	Corte de nódulos de <u>Stylosanthes gracilis</u> , izquierda: nódulo amarillento; derecha: nódulo negro	43
6	Bacterios simbióticos en nódulos de <u>Stylosanthes gracilis</u>	43

INTRODUCCION

El estudio de la nodulación y crecimiento de las leguminosas en los trópicos es muy importante, pues éstas constituyen por su alto contenido en proteínas y otros elementos un alimento primordial. Al mismo tiempo son de vital importancia para el consumo humano, para el mantenimiento y mejoramiento de la ganadería y como cultivo de cobertura para proveer de nitrógeno a diversos cultivos de valor comercial.

En general, la nodulación y crecimiento de las leguminosas se ven afectados por numerosos factores, tales como las deficiencias de ciertos elementos esenciales (en especial molibdeno, boro y otros), y por la falta de bacterios fijadores apropiados para el normal desarrollo del proceso de la fijación.

Las investigaciones llevadas a cabo sobre la nodulación y crecimiento de las leguminosas han sido realizadas en su mayoría en las regiones de clima templado; poco se conoce en los trópicos.

Por ser tanto el boro como el molibdeno microelementos de gran importancia en la nodulación y fijación de nitrógeno en el suelo, se ha creído conveniente estudiar su comportamiento en suelos tropicales, sobre todo en zonas lixiviadas, donde se supone que la concentración de estos elementos es muy baja o que tal vez no se encuentren en estado disponible para las plantas debido a la acidez del suelo, hecho tan común en estas zonas de alta precipitación.

Los factores nutricionales pueden afectar la acumulación de nitrógeno por las leguminosas en dos formas: primeramente pueden ser responsables de la aguda deficiencia de nitrógeno y, secundariamente, influyen en la formación de proteínas a partir de los componentes primarios del nitrógeno.

Los factores comprendidos dentro del primer grupo operan principalmente

a través del nódulo, influenciando en la formación y función de éste, mientras que el resto son principalmente concernientes al metabolismo de la planta huésped. Sin embargo, la asociación entre el nódulo y la planta huésped está estrechamente ligada con muchos procesos interdependientes.

El estudio se llevó a cabo en suelos provenientes de la localidad de Paraíso (Costa Rica) por tener esta zona suelos pobres y bastante lixiviados, cuyas características son similares a aquellas zonas de muchos países latinoamericanos, donde el comportamiento de las leguminosas es desuniforme, tal vez debido a las causas mencionadas.

Se han elegido las especies Stylosanthes gracilis, S. guayanensis y Leucaena glauca para este estudio por razones que son leguminosas no sólo de gran valor alimenticio sino también por su buena aceptación por el ganado.

El presente trabajo es una contribución al conocimiento de las causas que impiden un normal crecimiento y nodulación de las leguminosas en algunas partes de los trópicos. Los principales objetivos que se persiguen con este estudio son:

1. Determinar la influencia del molibdeno, boro, grado de acidez del suelo e inóculo sobre el número y tamaño de los nódulos de la planta.
2. Determinar el efecto del molibdeno, boro y cal en el contenido de nitrógeno en el suelo y en las plantas, considerando raíz y parte aérea independientemente.
3. Determinar la influencia de los factores arriba mencionados sobre el crecimiento, floración y rendimiento en peso seco.

REVISION DE LITERATURA

I. STYLOSANTHES GRACILIS

A. Centro de origen y área de dispersión

Parodi (86) reporta que el género Stylosanthes es una leguminosa perteneciente a la subfamilia de las Papilionoideas y a la tribu de las Hedisareas.

Según Escobar (32) este género comprende muchas especies propias de Asia, Africa y América. En la Argentina existen seis especies y algunas variedades, tanto en el centro como en el norte de la República. Su distribución es la siguiente: Stylosanthes scabra Vog. en la región de Salta y Jujuy; S. viscosa Sw. abarca la zona del Chaco; S. leiocarpa Vog. está difundida en las áreas de Uruguay y Brasil; S. macrosoma Blake en las zonas de Tucumán, Chaco, Corrientes y en el Paraguay; S. gracilis H.BK que es una especie polimorfa de la Argentina subtropical, llega hasta Córdoba y el norte de la provincia de Buenos Aires; S. montevidensis Vog. existe también en la zona de la Argentina subtropical hasta el norte de la provincia de Buenos Aires y en el Uruguay; S. juncea está ampliamente difundida en Misiones, Corrientes y el Paraguay (26).

White (113) menciona algunas otras especies de este género que están adaptadas en diversos lugares del mundo, tales como S. bojeri que es una especie africana, procumbente, perenne, más resistente a las heladas y a la sequía que S. gracilis; S. erecta se adapta a los prados permanentes en los suelos arenosos de Sierra Leona; S. sundaica que es originaria de Sudáfrica, crece en los prados subtropicales de Australia y está muy extendida por los lugares de la zona costera de Queensland.

Pittier (89) reporta que en Venezuela existen siete especies de Stylosanthes nativas.

B. Características

La especie S. gracilis o guianensis es una planta vigorosa, perenne, de 30 a 60 cm. de altura, originaria de la región tropical de la América del Sur. Tiende a arraigar por los nudos y su gama de adaptabilidad es muy grande. En Queensland se ha cultivado con éxito en muchos tipos de suelos y parece que prospera en los lugares secos y en los húmedos; tolera la acidez, pero no las condiciones pantanosas. Esta leguminosa tiene un aspecto algo semejante a la alfalfa, pero se vuelve muy leñosa si se le deja crecer mucho; si se mantiene corta se convierte en una planta frondosa.

En lo que respecta a su palatabilidad, hay diversas opiniones, pero parece que cuando el ganado se acostumbra a ella, la pasta con gusto. Produce una gran cantidad de semillas que maduran de un modo desigual, circunstancia que dificulta su recolección (113).

Paul (87) reporta que en Ceylan es una buena leguminosa pastoral para praderas temporales en las tierras bajas y húmedas del país, donde vegeta bien junto con Brachiaria distachia, Paspalum dilatatum y Alysicarpus vaginalis; este mismo autor dice que la especie S. gracilis compite favorablemente con la alfalfa.

Graham (38) informa que esta especie se adapta bien en las diversas zonas de Queensland y prospera muy bien en las asociaciones con la hierba gorda (Melinis minutiflora) y hierba guinea (Panicum maximum). En el Brasil se emplea en las zonas donde no puede crecer la alfalfa, sobre todo en los suelos ácidos.

Nwosu (84) concluye que la especie S. gracilis llamada comúnmente "alfalfa del Brasil", fue introducida a la Federación de Nigeria (Africa) en el año de 1947 desde Queensland (Australia). En la región este del país ha obtenido más uso como abono verde, mientras que en otras regiones es usado como alimento para el ganado en forma verde o de heno por su alto

contenido en proteínas, y también para la conservación de suelos gracias a su rápido crecimiento. Debido al alto contenido en proteínas y minerales, la especie S. gracilis ha alcanzado gran importancia en esta región de Africa.

II. LEUCAENA GLAUCA

A. Centro de origen y área de dispersión

El género Leucaena, perteneciente a la familia de las leguminosas, comprende de 30 - 40 especies cuyo centro de polimorfismo es México, con algunas especies hasta Perú y Venezuela y una en Oceanía. Otra, L. glauca (L) Benth, es muy difundida en países cálidos por ser cultivada inclusive en el norte de la Argentina (Tucumán, La Rioja, Chaco, Misiones). L. glauca es de origen antillano y centroamericano (26).

White et. al. (113) afirman que el género Leucaena comprende unas 10 especies de árboles y arbustos siempre verdes, inermes, que se asemejan bastante a la acacia. Estos autores dicen que son nativas de América Central, Sur y de las islas del Pacífico.

Bailey (16) indica que este género incluye árboles conocidos en el sur de Florida; también es cultivado en el sur de California.

Escobar (32) reporta que a este género pertenecen las siguientes especies: Leucaena microcarpa, conocida en México como guajillo, Leucaena esculenta o guaje, Leucaena pulvurulenta o tepecuaje y Leucaena glauca o acacia pálida.

La especie Leucaena glauca también es conocida como Acacia glauca, Acacia leucociphela Link. y Mimosa glauca (32). En la Argentina la conocen como acacia bella o también lantoro (26).

Dijkman (29) reporta que la especie Leucaena glauca Benth. es una

leguminosa arborescente, perteneciente a las Mimosáceas; su medio original es México, donde se encontró al principio desde Jalisco hasta Michoacán, en Chiapas y Yucatán. No se conoce la fecha de su introducción en la región oriental del Pacífico, pero probablemente está ligada a la ocupación española en las Filipinas e Indonesia.

La primera mención de la importancia agrícola de esta leguminosa, se encuentra en la literatura cafetalera de Java allá por el año 1900, donde se le menciona en conexión con la sombra y el mantenimiento de la fertilidad del suelo.

Este mismo autor informa que Leucaena glauca fue introducida oficialmente a El Salvador en junio de 1947, con procedencia de Honolulu, Hawaii, y sembrada en las Estaciones Experimentales de San Andrés, y Santa Cruz Porrillo.

A pesar de que esta especie es de América Tropical e islas del Pacífico, existe también en Texas y está también naturalizada en el Viejo Mundo (16) y en Indonesia, Hawaii, India y Africa (113).

B. Características

La especie Leucaena glauca es un árbol o arbusto arborescente, de raíces profundas, que mide de 2 a 10 metros de altura, con hojas bipinadas, foliolos lanceolados y flores de color blanco-amarillento, en inflorescencia terminal.

Dijkman (29) reporta que la raíz principal es vigorosa y bien desarrollada y crece con gran rapidez, sus escasas raíces laterales parten de la raíz principal hacia abajo en un ángulo agudo. Otra característica importante es que las raíces perforan un estrato compacto, abriendo y aereando de este modo los suelos impermeables.

La Leucaena glauca tiene muy buenas propiedades para fijar nitrógeno

siempre que el bacterio que forma los nódulos y fija dicho elemento esté presente en la tierra; en ausencia del bacterio compete con las otras plantas por el nitrógeno.

Con su sistema radical profundo la Leucaena extrae nutrientes de un estrato que no es accesible a la mayoría de las otras plantas. Gradualmente devuelve estos elementos a la capa superficial, mediante sus hojas caídas, las cuales se pudren rápidamente. Una cualidad singular es que crece fácilmente y prospera en las pendientes más agudas y pedregosas.

White et al. (113) informan que esta especie requiere que el suelo tenga buen avenamiento, pero se adapta a una fertilidad bastante baja. En Ceilán crece sin dificultad desde el nivel del mar hasta 750 metros de altitud, dentro de las zonas que tienen una precipitación de 1651 a 2540 mm.

Con respecto a los extremos de la precipitación pluvial que puede resistir, sea como cultivo para sombra o para la conservación del suelo, es interesante saber que se utiliza en regiones con 4000 mm. de lluvia al año, lo mismo que en regiones con sólo 700 mm.

La Leucaena silvestre se encuentra en Indonesia desde el nivel del mar hasta 500 m., mientras que en el cultivo de café y té hasta 1500 m.

En Hawaii se encuentra en condiciones naturales hasta 170 m. sobre el nivel del mar en las zonas de abundante lluvia y hasta 330 m. en las localidades de sotavento más secas (29).

Además, de los diversos usos que se le da, la Leucaena glauca es también una planta forrajera. El forraje tierno es muy sabroso, nutritivo y rico en proteínas; en algunos países las semillas y las vainas se usan como concentrados. Sin embargo, el follaje sólo es apropiado para los rumiantes; no así para los animales monogástricos como caballos y cerdos. La toxicidad para éstos se debe al elevado contenido de mimosina que tienen en sus hojas y

semillas, alcaloide que da origen a una enfermedad que es causa de alopecia. Se sospecha también que a veces esta especie podría originar esterilidad en vacas y en cerdas. Cuando se cultiva para forraje, el primer corte se puede hacer a los 6 ó 9 meses de la siembra y los siguientes a intervalos de unos 4 meses (113).

III. NODULACION

A. Desarrollo y función de los nódulos

En las primeras teorías sobre la naturaleza y funciones de los nódulos radicales de las leguminosas, existía la tendencia a clasificar éstos ya como productos de algún desorden patológico, ya como órganos de reserva (113). Allen y Allen (4), Dart y Pate (28) consideraron los nódulos como una estructura de la planta. Bergersen (18) investigó el desarrollo de los nódulos radicales de las leguminosas, para lo cual los dividió dentro de sus diversos estados y estudió las barreras que impiden la fijación de nitrógeno de los nódulos inefectivos. Cuando Ward (citado por White et al. 113) demostró que la formación de nódulos se debía a la infección bacteriana, se comprendió que el nódulo es una característica de la mayoría de los miembros de la familia de las leguminosas, y que tienen además una gran importancia desde el punto de vista de la nutrición.

La forma, el número y la distribución de los nódulos varían mucho de una planta a otra. Las plantas anuales cultivadas tienen en general nódulos grandes, carnosos, esféricos, piriformes, claviformes o flavelados, aislados o en grupos, y distribuidos sobre todo en torno a las raíces axonomorfas o a las laterales primarias. Las plantas perennes o bienales tienden a producir nódulos más pequeños, alargados, arracimados y muy distribuidos; en las partes jóvenes del sistema radical se forman nuevos nódulos constantemente.

El número total de nudosidades en una sola planta oscila entre algunos y varios millares, aunque la presencia de un gran número de nódulos no ha de tomarse necesariamente como garantía de una fijación eficiente de nitrógeno (113).

B. Multiplicación de Rhizobium y disponibilidad de la planta huésped para la infección

La rizosfera y el rol de las plantas en su composición requiere todavía un estudio intensivo. Rovira (99) comparó la rizosfera del trébol rojo con la gramínea Paspalum en un suelo ácido. Encontró que los bacterios del tipo Rhizobium fueron más numerosos y contribuyeron en forma más notable en la mejora de los suelos alrededor de las raíces del trébol rojo. La cantidad del factor de crecimiento, contenido en las exudaciones de las raíces del guisante, es el responsable para la estimulación de los microorganismos de la rizosfera (98).

Numerosas investigaciones mostraron que el número de nódulos tiene cierta relación con el número de bacterios del género Rhizobium en la rizosfera y también con la cantidad de inóculo existente (20). La dificultad involucrada en estos estudios es que existe una multiplicación de los bacterios en el medio y como resultado el inóculo inicial no es representativo del número de bacterios disponibles luego para la infección. Purchase y Nutman (90) evitaron esto en la mayoría de los casos con una fuerte inoculación en la cual una raza no virulenta actúa como diluyente de la virulenta. La estimulación del crecimiento de Rhizobium en la rizosfera del trébol y de la alfalfa es independiente del hábito de nodulación de las plantas y del medio sobre el cual ellos están creciendo.

Los mismos autores mostraron que el número de nódulos está asintóticamente relacionado con la densidad bacterial y que el número de bacterios de

Rhizobium usualmente presentes en la rizosfera excede grandemente al requerido para la máxima nodulación.

Mulder y van Veen (70) encontraron que para una óptima nodulación se requería introducir 60,000 células de Rhizobium dentro de 500 gramos de suelo, sobre el cual antes no hubo nodulación del Trifolium pratense.

Aparte de sustancias nutritivas y de factores de crecimiento, se tiene la idea de que las raíces secretan también unas sustancias que son necesarias para la invasión radical. Nutman (81) encontró una respuesta a la inoculación antes del sembrío y concluyó que las secreciones radicales aceleran la nodulación a bajos niveles, pero inhiben la formación de nódulos a altos niveles. Sin embargo, Gibson y Nutman (36) mostraron que ambos efectos pueden ser generalmente explicados por la eliminación antes del sembrío de los nitratos contenidos en el agua corriente usada para el medio de cultivo del Rhizobium.

En cultivos de agar, trébol y alfalfa alcanzan una máxima susceptibilidad para la infección aproximadamente a la edad de dos semanas y entonces la formación de nódulos ocurre dentro de un mínimo de cuatro días (81).

Chen y Thorton (citado por Allen y Allen 4) dijeron que las infecciones ocurren algunas horas después de la inoculación, pero hay un período de resistencia (81) que se extiende por algunos días después de iniciada la germinación. Thorton (citado por Raggio et al. 91) dice que la infección de la alfalfa coincide con el desarrollo de las primeras hojas verdaderas, pero la nodulación ocurre igual en las plantas que están produciendo solamente los cotiledones.

Raggio et al. (92) han demostrado que los nódulos pueden ser formados sobre raíces cortadas de frijol, inoculados con la variedad apropiada de Rhizobium.

La formación de nódulos efectivos sobre raíces cortadas (93) no excluye completamente la posibilidad que las sustancias específicas requeridas para la fijación de nitrógeno o nodulación o para ambas deben ser trasladadas de los cotiledones, puesto que las raíces estudiadas fueron cortadas después de cuatro días de la germinación.

Kefford et. al. (48) consideran que el número de nódulos producidos en un determinado volumen de suelo es limitado por la cantidad de ácido indolacético formada por el Rhizobium del tryptófano secretado por las raíces.

C. Crecimiento de los nódulos

La nodulación generalmente se verifica más o menos en el momento de brotar la primera hoja verdadera, pero el mecanismo y la entrada del Rhizobium a la raíz permanece todavía oscuro (4). Ciertos informes asocian la infección con la producción de ciertas sustancias estimulativas de la raíz y la aparición de la primera hoja verdadera.

Los bacterios del género Rhizobium penetran a las raíces de las leguminosas a través de los pelos absorbentes (21). Se puede infestar un gran número de pelos radicales, pero sólo a partir de una pequeña proporción se forman nódulos. En la inmediata proximidad de esos pelos absorbentes proliferan los bacterios, sin duda a consecuencia de los productos que excretan las raíces de la planta. La proliferación riza los pelos de las raíces debido a unas secreciones hormonales del tipo auxinas (113). La infección de los pelos radicales es seguida inmediatamente por un alineamiento del Rhizobium dentro de un hilo que crece en dirección de la célula basal. La migración del bacterio desde el sitio de infección al interior de la pared de la célula epidermal requiere entre 18 a 48 horas, dependiendo esto de la especie de planta (21).

En muchas especies el hilo de infección atraviesa las células exteriores

de la corteza de la raíz; en el caso de la soya la penetración afecta únicamente las 5 ó 6 primeras capas celulares del espeso parénquima cortical de la raíz axonomorfa. En las raíces laterales, donde la resistencia de las células es menor, puede llegar a alcanzar hasta el periciclo (21). Los bacterios luego se liberan del hilo de infección en los tejidos corticales y penetran en las células, donde proliferan. Al mismo tiempo estas células y las vecinas se dividen bajo el estímulo de los bacterios (41, 118).

De acuerdo con Wipf y Cooper (117), las células infectadas de los nódulos del trébol, veza y guisantes son regularmente tetraploides. Este mismo autor (118) hipotetiza que las células disomáticas son pre-requisitos para liberar el Rhizobium del hilo y para la proliferación de los tejidos que culminan con la formación del nódulo. Según ciertas hipótesis, el Rhizobium secreta sustancias hormonales capaces de provocar poliploidía; otras suponen que los nódulos se forman únicamente en los puntos donde ya existe una o más células tetraploides en el tejido cortical.

Bergersen (18) observó un crecimiento cortical retardado, y unos hinchamientos que asumieron la forma de pequeños nódulos eran producidos por una raza de R. trifolii sobre Trifolium subterraneum. Las células del tejido central son monosomáticas y su núcleo es degenerado rápidamente después de la invasión de las células por el hilo. Esos posteriormente permanecen intactos hasta la desintegración del tejido nodular y desarrollo del tejido disomático inutilizado.

Nutman (83) encontró que los nódulos efectivos, producidos sobre plantas de trébol rojo, homocigotas para genes recesivos ie son grandes, en contraste a muchos nódulos inefectivos, porque los meristemas continúan su desarrollo a pesar del anormal funcionamiento del tejido central infectado. Ninguna multiplicación de la raza ni formación bacteroide es encontrada; la hemoglobina es ausente. La célula madre anormal es un resultado de tumorizaciones

(19). Nutman (82, 83) reportó que los nódulos inefectivos, formados sobre ii de las plantas de trébol rojo, son notables porque en la subsiguiente multiplicación el bacterio permanece en forma de varillas. Obviamente la formación bacteroide no está condicionada solamente por uno u otro partícipe, porque es inhibida solamente con una raza particular de Rhizobium.

Es importante notar aquí que la controversia sobre la necesidad de bacterios para la fijación no está todavía establecida. Bergersen (18) pensó que los cambios estructurales ocurren cuando las varillas llegan a ser bacteroides y los cambios fundamentales en el metabolismo probablemente resultan de la hipertrofia de los núcleos bacteriales.

Bergersen (17) encontró un polisacárido (dextrina) entre el protoplasma y la pared celular de las células infectadas y las adyacentes, tanto en nódulos inefectivos de T. ambiguum como en T. subterraneum y T. repens. En nódulos efectivos de T. ambiguum el carbohidrato periférico se encuentra solamente en una zona muy angosta de las células, a corta distancia detrás del meristema del nódulo, donde los bacteroides son todavía inmaduros; igual cosa sucede con los bacteroides de los nódulos inefectivos. Esas observaciones sugieren que la acumulación de carbohidratos en el nódulo es en alguna forma conectada con los bacteroides de desarrollo detenido y que de allí puede resultar la inefectividad de éstos.

D. Simbiosis y el problema de la inoculación cruzada

Los bacterios del género Rhizobium son pequeñas células en forma de bastoncitos que al principio se mueven por medio de flagelos periféricos, pero que más tarde pierden la ~~movi~~lidad, se hipertrofian y se convierten en células asociadas e irregulares denominadas "bacteroides", que son frecuentes sobre todo en los nódulos y más raras en cultivos puros.

En las primeras hipótesis se les atribuía un ciclo vital complicado, en

el que pasaban por una serie de metamorfosis; pero las últimas investigaciones no han logrado establecer correlaciones definidas entre las funciones asociadas y las diferencias morfológicas (113).

Norris (76, 77) postula que las leguminosas originadas bajo condiciones húmedas y calientes son relacionadas a suelos lavados y bajos en nutrientes disponibles. Algunas tribus (mayormente de las subfamilias Mimosoideae y Cesalpinoideae) no se adaptaron al sufrir un cambio climático, mientras que otras (Papilionoideae) adaptadas a climas templados y suelos calcáreos fértiles sí se adaptaron.

La simbiosis con Rhizobium ha tenido que originarse antes que la diferenciación causada por el cambio climático y la aislación geográfica. Norris también cree que la promiscuidad simbiótica en muchas leguminosas modernas de polinización libre (114, 115) representa una condición ancestral. Solamente el Rhizobium del frijol está asociado con las leguminosas tropicales, compitiendo en suelos muy pobres y ácidos; por lo tanto, estas razas simbióticamente promiscuas y de crecimiento lento (en cultivos puros), representarían el tipo primitivo, mientras que el Rhizobium de las tribus Trifolieae y Vicieae serían de tipo reciente y simbióticamente restrictos. Bond et. al. (23) también creen que la nodulación y fijación concomitantes son caracteres muy antiguos. Parker (85) ha enfatizado las posibles etapas en el desarrollo de la asociación. Según Norris, los grupos de inoculación cruzada deberían ser sustituidos por un sistema simbiótico común (76, 78).

Se considera que la barrera que ofrecen a la entrada de los bacterios las plantas que no pertenecen al grupo de inoculación cruzada o las leguminosas, está al nivel del pelo radical (80).

Varias veces se ha tratado de contrarrestar la barrera de inoculación cruzada por medio de injertos. Nutman (80) no tuvo éxito en obtener nodulación de raíces resistentes de trébol rojo que había sido injertado con

material de trébol rojo susceptible. Hely et. al. (42) sí tuvieron éxito con muchos injertos intergenéricos e interespecíficos.

E. Factores físicos que afectan la nodulación

Con respecto a los factores físicos, la mayoría de los tipos de Rhizobium se desarrollan en forma óptima entre los 29 y 31°C; pero se conocen estirpes de R. melilotii que tienen un óptimo de 35°C. Todas las razas muestran la misma tolerancia a la alcalinidad, con un límite aproximado de pH 9.6; la acidez los afecta de manera variable, siendo el R. melilotii el menos tolerante, con un límite aproximado de pH 5.0 y el R. lupini y R. japonicum los más tolerantes con límites de pH 3.2 a 4.2.

Aunque el Rhizobium es un organismo fundamentalmente aerobio, su desarrollo en el suelo o en los nódulos tiene lugar en condiciones de contenido de oxígeno inferiores a las del aire atmosférico. En efecto, toleran tensiones de oxígeno del 5% o menos con una pérdida insignificante de actividad; en un medio artificial el potencial de oxidación/reducción es un factor importante que condiciona el crecimiento y se prefieren condiciones ligeramente reductoras (113).

Stalder (citado por Raggio et. al. 91) trató de separar el efecto de la temperatura en la infección de sus efectos sobre el desarrollo del nódulo de guisante. Su método fue inadecuado para la separación de estas etapas, pero sus resultados muestran que los nódulos se forman entre 7 y 27°C; sobre 27°C el número de nódulos baja bruscamente, mientras que el peso del nódulo individual aumenta; a 7°C la nodulación es un 10% de la máxima a 21°C; también aumenta en este caso el peso del nódulo.

Meyer y Anderson (63) encontraron que la fijación y no la nodulación es afectada en el T. subterraneum sobre 25°C. Sugirieron que los efectos de trimentales informados por alta intensidad de luz pueden ser explicados

principalmente como debidos a la alta temperatura.

Sinroval (105) y colaboradores (104) reclamaron la corroboración de experimentos anteriores (106) indicando que, a pesar del efecto fotoperiódico, la nodulación es mejor durante días largos. En estos experimentos los efectos fotoperiódicos fueron opacados por la interferencia fotosintética debido a la alta intensidad de la luz dada a las plantas de días largos en el período adicional al día de ocho horas. Lo que se demostró una vez más fue que la fotosíntesis se necesita para la nodulación y que dentro de límites la nodulación depende de la disponibilidad de carbohidratos (91).

Trabajos realizados por Raggio et. al. (92, 93) han demostrado que las raíces aisladas de guisante, frijol y de soya nodulan cuando se les suple de sucrosa y algunas vitaminas y que los nódulos formados en estas condiciones fijan nitrógeno.

Bach et. al. (15) han demostrado que la adición de azúcares aumenta la fijación de N_2^{15} en nódulos partidos de soya.

F. Factores químicos que afectan la nodulación

1. Nitrógeno

Raggio et. al. (91) reportan que es difícil evaluar la mayoría de los experimentos en los cuales se estudian los niveles de nitrógeno o cualquier otro nutriente en relación con la nodulación o fijación, porque no se toman precauciones para mantener una composición constante del ambiente. Toda la evidencia de leguminosas y no leguminosas coincide con las observaciones comunes que señalan hacia una inhibición de ambos procesos por un alto nivel de nitrógeno disponible. Sin embargo, Gibson y Nutman (36), Mac Connell et. al. (57), informan que un bajo contenido de nitrógeno (alrededor de 5 ppm y aún hasta 50 ppm) es beneficioso para la nodulación y fijación, si es aplicado en forma de nitratos. Puede ser que al comienzo

la nodulación es retardada. Gibson y Nutman (36) dicen que el aumento del número de nódulos es obtenido con 16 ppm de nitrógeno en forma de nitratos, nitritos o urea, pero solamente NO_3^- y NO_2^- retardan el comienzo de la nodulación. Esto y otras evidencias sugieren que los efectos en el tiempo de la nodulación y en el número de nódulos producidos son independientes y más aún, que los carbohidratos disponibles o la relación C:N es una explicación inadecuada del efecto inhibitor del nitrato.

White et. al. (113) concluyeron que si se abonan las leguminosas con fertilizantes compuestos que contienen nitrógeno, la absorción de este elemento por la planta puede ajustarse a una relación C:N y se reduce la fijación de nitrógeno; si esto se prolonga durante mucho tiempo, se inicia la degeneración del nódulo. Además, ellos consideran que la relación C:N afecta también la formación de nódulos en la planta. Un alto nivel de nitrógeno contenido en los fertilizantes compuestos en el suelo impedirá que se deformen los pelos absorbentes de las raíces.

Mc Auliffe et. al. (56) han estudiado en el campo la influencia de fertilizantes con nitrógeno en la fijación simbiótica mediante el uso de compuestos de nitrógeno marcados N_2^{15} .

Raggio et. al. (92) encontraron que en las raíces del guisante, tratadas con NO_3^- , se inhibe la nodulación, si la adición es hecha en un medio común para la raíz y el bacterio, pero no si se administra a través de la base de la raíz.

2. Calcio, magnesio y pH

Loneragan y Dowling (54) encontraron una interacción de los iones de calcio y de hidrógeno en la nodulación de T. subterraneum en soluciones nutritivas. A un pH 4.0 o inferior no se forman nódulos a ninguna concentración de calcio. Si la concentración de calcio es 0.01 mM o inferior no

aparecen nódulos a ningún pH usado (3.5 a 6). El crecimiento de las plantas es prácticamente uniforme entre los pH 4.5 a 6 y a concentraciones de 0.1 a 10 mM de calcio.

Las interacciones de calcio y pH fueron estudiadas en experimentos de campo y en macetas por Mulder y van Veen (71). Andrew y Norris (12) encontraron que la formación de nódulos es sensitiva al calcio, tanto en especies tropicales como templadas. La sobrevivencia de leguminosas tropicales en suelos muy pobres está relacionada con: a) su capacidad para extraer del suelo más calcio que las leguminosas templadas; b) al hecho de que las arcillas kaoliniticas que prevalecen en suelos tropicales, a pesar de poseer menos cantidad de bases, las ceden más libremente a las plantas que a otros tipos de arcilla. Con respecto al cultivo de leguminosas las prácticas agrícolas en los trópicos deben poner mayor énfasis en las razas apropiadas de Rhizobium y un abastecimiento balanceado de nutrientes en vez del uso de cal (77).

Loneragan y Dowling (54) encontraron que una raza de R. trifolii creció bien sin más calcio disponible que aquél que está presente como impureza en fertilizantes y refutó el punto de vista de Norris de que el Rhizobium del trébol es calcícola. Al mismo tiempo Norris (79) comenzó a reinvestigar el problema del diferente comportamiento nodular de leguminosas nativas e introducidas en suelos australianos bajos en calcio. El encontró que el calcio era a lo sumo un micronutriente para todas las razas probadas, incluyendo aquellas de Vicieae, Trifolieae. Simultáneamente mostró que el magnesio era esencial. La necesidad de magnesio fue confirmada por Vincent y Colburn (109). La deficiencia de calcio demostró inducir hinchamiento y vacuolación en R. trifolii.

Loneragan (53) reportó que el Rhizobium no responde al calcio pero es

afectado por un pH debajo de 5. Creía que el efecto específico del calcio sobre la fijación de nitrógeno está relacionado con su influencia en el abas tecimiento de metabolitos al nódulo en vez de una participación directa en la fijación y que el requisito de calcio para la nodulación es más alto que para el crecimiento de cualquier planta simbiótica.

IV. INFLUENCIA DE LA NUTRICION MINERAL SOBRE LA FIJACION DE NITROGENO Y CRECIMIENTO DE LAS LEGUMINOSAS

A. Factores responsables de la deficiencia de nitrógeno

Andrew (9) opina que los factores nutricionales pueden afectar la fijación de nitrógeno en dos formas: primeramente, ellos son responsables de la aguda deficiencia de nitrógeno y, segundo, influyen en la formación de proteíñnas a partir de los componentes primarios de nitrógeno y tienen un efecto indirecto sobre el aspecto cuantitativo de la fijación de nitrógeno.

Los factores comprendidos dentro del primer grupo operan principalmente a través de los microorganismos simbióticos del nódulo, influenciando la formación y función de éste, mientras que los restantes son principalmente concernientes con el metabolismo de la planta huésped. Sin embargo, la asociación entre los bacterios del nódulo y la planta huésped está estrechamente ligada con muchos procesos interdependientes.

Nutman (citado también por Andrew 9) sumariñó la fisiología de la forma ción de nódulos y claramente describió el método de infección. Enfatizó la importancia de la planta huésped, con particular referencia al desarrollo de la raíz, especialmente de los pelos radicales.

El efecto de los factores nutricionales sobre el desarrollo de la raíz y su funcionamiento están incluidos en el primer grupo, grupo que comprende facñtores tales como la acidez del suelo, deficiencias de molibdeno, calcio, boro

y de algunos otros elementos que juegan un rol importante en dichos procesos. El segundo grupo de los factores afecta principalmente al metabolismo del nitrógeno y crecimiento general de las plantas.

B. Acidez del suelo y concentración del ion hidrógeno

Casi todos los trabajos hechos sobre el efecto de la concentración del ion hidrógeno sobre el crecimiento de las plantas han sido hechos en plantas no leguminosas.

Arnon et. al. (13) trabajando con plantas de tomate, lechuga y zacate Bermuda encontraron que los efectos de la acidez fueron solamente notables fuera del rango de pH 4 - 8, y que en este ámbito gran cantidad de nutrientes fue disponible para la planta; también encontraron que una alta concentración del ion hidrógeno reducía la absorción de calcio por la lechuga. Esto fue comprobado por Schmehl (103), quien trabajando con alfalfa, encontró que el rango de absorción de calcio fue reducido en presencia de Al^{+++} y en menor grado en presencia de Mn^{++} y H^+ en soluciones nutritivas. Los mismos autores dicen que el bajo contenido de calcio observado en plantas que están creciendo en suelos ácidos, puede ser debido a efectos antagónicos de Al^{+++} , Mn^{++} y H^+ sobre la absorción de calcio, así como el crecimiento restringido de las raíces, en lugar de ser debido al poco contenido de calcio en el suelo.

No obstante de carecer de conocimientos completos sobre el efecto de la concentración del ion hidrógeno sobre el crecimiento de las leguminosas, numerosos trabajos han citado valores óptimos de pH del suelo para diversos cultivos.

Hay pocos resultados publicados para las leguminosas tropicales y éstos están limitados a Pueraria phaseoloides (Kudzú tropical). Samuels y Landrau (101) reportaron de Puerto Rico respuestas en rendimiento a la aplicación de

cal sobre un suelo laterítico arcilloso de pH 4.4. Sin embargo, el contenido de nitrógeno del Kudzú tropical fue inalterado. Riera (96) dijo que en suelos encalados en Puerto Rico con un pH 7.0 obtuvieron mayores rendimientos que con suelos no encalados de pH 4.5 a 6.0. Abruña et. al. (1) reportaron que el encalado incrementó el rendimiento en materia seca y el contenido de proteína (de 14.9 a 18.1%) en Kudzú tropical que creció sobre un suelo arcilloso de la serie Catalina y que tuvo un pH de 4.8.

C. pH y Rhizobium, pH y la absorción de nutrientes

Hay una creencia general que el Rhizobium es más sensitivo a la acidez que la planta huésped. Jensen (citado por Andrew 9) reporta que el pH del medio adecuado para el eficiente funcionamiento del tejido nodular fue más bajo que el requerido para la sobrevivencia de los microorganismos y la infección de la planta. Niveles críticos de pH han sido determinados para Rhizobium de casi todas las leguminosas de clima templado, pero todavía no se tienen datos concernientes para razas de Rhizobium de las leguminosas tropicales. Bryan (citado por Spencer 107) encontró que la alfalfa tenía un pH crítico alrededor de 5.0, trébol rojo de 4.5 a 4.7 y frijol de soya de 3.0 a 3.5. Los valores para el Trifolium subterraneum están comprendidos entre pH 5.0 a 5.2.

Ha sido sugerido por varios investigadores que la adición de nutrientes, particularmente de calcio y nitrógeno, puede modificar los efectos deletéreos del bajo pH y viceversa.

Arnon y Johnson (13) encontraron que el daño en las raíces de las plantas superiores ocurría a un pH 3.0 o inferior. A pH 3.0 no se produce la absorción de nutrientes, al contrario, el fósforo y calcio fueron cedidos de la planta al medio. A pH 9.0 se redujo la extracción del fósforo y a pH 4.0 a 5.0 la absorción de calcio fue la más baja, particularmente en lechuga y

tomate. Entre pH 4.0 y 9.0 no fue observado un efecto profundo sobre la absorción de magnesio, potasio o nitrato.

Pérdidas de potasio de la planta hacia el medio a pH bajo han sido atribuidas a la pérdida pasiva (35, 39, 75). Murphy (73) estudió el efecto de la concentración del ion hidrógeno sobre la absorción de potasio por las raíces de Lolium perenne y concluyó que el ion hidrógeno compitió con otros cationes, particularmente potasio.

La toxicidad de manganeso es usualmente asociada con la acidez del suelo. Lohnis (52) investigó el efecto del exceso de manganeso sobre el crecimiento de guisante y otras leguminosas de clima templado y encontró que Phaseolus vulgaris, Vicia sativa y alfalfa fueron susceptibles, mientras que el trébol rojo, trébol blanco y Vicia faba fueron mucho menos sensibles.

Las interacciones de manganeso con algunos otros nutrientes han sido reportadas y se ha sugerido que el exceso de manganeso puede inducir deficiencias de molibdeno en un suelo deficiente en este elemento (5, 8, 110). Walker et. al. (110) concluyeron que el efecto del exceso de manganeso sobre la efectividad del molibdeno fue mayor en el caso de la fijación de nitrógeno que sobre la planta huésped.

Las interacciones de calcio y manganeso han sido reportadas por varios autores. Schmehl et. al. (102) establecieron que la alfalfa desarrolla síntomas de exceso de manganeso cuando la relación calcio: manganeso fue < 75 . Similares relaciones han sido obtenidas por Wallace (111).

D. Calcio

Andrew et. al. (9) reportaron que el aprovechamiento del calcio, tanto por la planta como por el Rhizobium, es sumamente complejo. Aparte de su efecto en el pH y sus consecuentes efectos indirectos, el ion calcio es importante en el desarrollo de nuevos tejidos, particularmente el de las

raíces. La deficiencia de calcio en los tréboles se muestra por el marchitamiento y caída de los pedicelos y pecíolos, mientras que en la alfalfa, Phaseolus latyroides, Desmodium uncinatum y otras leguminosas tropicales el efecto es la muerte y caída de los brotes terminales; las raíces están limitadas en su crecimiento, descoloridas y muy ramificadas, con los extremos engrosados.

Albrecht (2) usó mezclas de arcilla y arena en la investigación de la nodulación y crecimiento de soya. Concluyó que el principal beneficio del encalado provenía del calcio como nutriente de las plantas. Más recientemente Norris (79) informó de la poca evidencia de que el calcio sea necesario para el crecimiento del Rhizobium bajo condiciones de cultivo, pero que sí el magnesio era esencial. Loneragan (53) ha demostrado que el contenido de calcio del tejido nodular es menor que el de las raíces y partes aéreas de la planta huésped y afirmó que los efectos de la deficiencia de calcio en la fijación de nitrógeno no eran necesariamente ocasionados por el déficit de calcio en el nódulo, pero que podían ser debidos a un suministro restringido posiblemente de hidratos de carbono, resultantes de la deficiencia de calcio en la planta huésped.

Oertel et. al. (citado por Evans y Purvis 34) sugieren que uno de los principales beneficios de la cal para las leguminosas es el aumento de la solubilidad del molibdeno.

Para el crecimiento de las leguminosas de clima templado en suelos ácidos es costumbre esparcir grandes cantidades de cal o concentrarla cerca de la se mila inoculada (6, 7).

Hay muy pocos casos de leguminosas tropicales que no nodulan; sin embargo, algunas leguminosas han respondido a la aplicación de cal. Samuels y Landrau (101) reportaron que el Kudzú tropical daba incrementos marcados en

la nodulación cuando crecía en un suelo ácido ligeramente encalado.

Andrew et. al. (11, 12) han encontrado que varias leguminosas tropicales y subtropicales pueden desarrollarse satisfactoriamente en un suelo ácido, mientras que leguminosas de clima templado, creciendo en el mismo suelo, exhiben síntomas de deficiencias de calcio. En un suelo de pH 5.2, sin calcio agregado, las cuatro leguminosas: alfalfa, Medicago tribuloides Desr., Trifolium fragiferum L. y trébol blanco rindieron 1.5, 2.0, 6.5% respectivamente de sus máximos rendimientos en la presencia de calcio agregado. Las leguminosas tropicales Desmodium uncinatum (Jacq) D.C., Indigofera spicata Forsk., Centrosema pubescens Benth., Stylosanthes bojeri Vog. y Phaseolus lathyroides L. rindieron 25, 40, 52, 64 y 68% respectivamente de sus máximos rendimientos en comparación con encalado. No se observaron síntomas de deficiencia de calcio en las especies tropicales y algunas de ellas, particularmente Sylosanthes, acumularon más calcio en sus tejidos que las especies templadas. Se observaron diferencias en la nodulación de las especies tropicales y el contenido de proteínas de Phaseolus y Centrosema subió con la adición de cal.

Allaway (3) y Mehlich et. al. (60, 61, 62) demostraron que el calcio es más rápidamente removido de la kaolinita que de arcillas montmorilloníticas; Mehlich también cita que el aprovechamiento del calcio aumenta con la creciente saturación de calcio de las arcillas. Esto recalca la importancia del balance nutritivo y de las relaciones suelo/planta.

Debe tenerse cuidado con el uso de cal en los suelos tropicales, sobre todo la cantidad que se aplique. Andrew y Bryan (10,11) han informado que una aplicación de 250 kg. de cal por acre es suficiente para provocar un máximo crecimiento en las especies tropicales y templadas, y en efecto, aplicaciones mayores de cal sobre este límite podían reducir los rendimientos particularmente de las especies de Stylosanthes.

E. Molibdeno

Numerosos son los autores que han informado de la importancia que tiene el molibdeno sobre el crecimiento, fijación de nitrógeno, nodulación y rendimiento de las leguminosas y otras plantas. Así mismo necesitan molibdeno los microorganismos fijadores de nitrógeno, ya sea que vivan independientemente como el Azotobacter o en simbiosis como el Rhizobium.

Bortelz (24) señaló que el Rhizobium requería apreciables cantidades de molibdeno para fijar nitrógeno atmosférico en arvejas, soya y trébol rojo. Así, el molibdeno es esencial en dos fases de la nutrición de las leguminosas; primero, en la eficiente fijación del nitrógeno por el Rhizobium, y segundo, en la transformación de nitratos a compuestos reducidos de nitrógeno. Al faltar este elemento aparecen característicos síntomas de deficiencia. En trébol rojo y trébol híbrido "Alsike clover" las hojuelas se ponen opacas, verde grisáceas o cloróticas, especialmente alrededor de los márgenes, las cuales se enrollan hacia abajo o hacia arriba, poniéndose rápidamente necróticas (43). En alfalfa (33, 43, 95) las hojas se marchitan y muestran un color verde pálido en las puntas. Un sombreado blanco intervenal, seguido por un completo blanqueamiento que se inicia en las puntas o en el centro de las hojuelas. Marchitamiento de los extremos de las hojas y pecíolos por la deficiencia de molibdeno también ha sido reportado para arvejas y frijoles (44, 59, 116). De planta a planta los requerimientos de molibdeno varían grandemente. Dentro de la familia de las leguminosas se ha encontrado que alfalfa y en general el género Medicago (69, 95, 119), tienen sustancialmente más altos requerimientos que los tréboles.

Los experimentos de Arnon y Stout (14) con cultivos de tomate en soluciones nutritivas sin molibdeno, revelaron síntomas de deficiencia en pocas semanas. Las hojas aparecían abigarradas, se enrollaron y necrosaron en los

bordes. La adición de 0.01 ppm de molibdeno impidió la aparición de dichos síntomas.

Síntomas de deficiencia similares también fueron observados por Hoagland (45) y Piper (88). Una revisión de literatura por Mogilner y Cenoz (65) dice que la sintomatología de carencia de este elemento en las plantas superiores se observa primeramente en las hojas, las que se vuelven cloróticas y a veces toman una coloración verde pálida, pierden la turgencia, lo que se manifiesta con mayor intensidad en la periferia de la lámina de las hojas (trébol y alfalfa) y a veces en la base del limbo (remolacha azucarera). En ausencia del molibdeno se demora el desarrollo de los meristemas, lo que indica que en las plantas deficientes en este elemento se perturba probablemente el metabolismo del nitrógeno y agua.

El mejoramiento, crecimiento y desarrollo de las plantas abonadas con molibdeno lo observaron Anderson et. al. (6), Evans y Purvis (34) et. al. (37, 49); todos encontraron aumentos significativos con aplicaciones de molibdato de sodio en cultivos de alfalfa.

El papel del molibdeno en la planta está ligado sobre todo al metabolismo del nitrógeno, en particular en las leguminosas. Bortelz (24) y Mulder (67) encontraron en el cultivo de estas plantas un aumento de nitrógeno y del crecimiento después de la aplicación de molibdeno al suelo.

Mulder (66), Strong (108), Mashtakov et. al. (58) reportaron que una gran parte del beneficio del molibdeno parece ser debido a efectos estimulativos sobre el bacterio nitrificador del nódulo y además a la ayuda en el desarrollo de otros microorganismos benéficos, que favorecen la nodulación y fijación de nitrógeno.

Bobko y Savvina (22) observaron la formación de nódulos en las raíces de guisante sólo después de la adición de molibdeno.

Minina (64) mostró la necesidad de molibdeno para la reducción de nitratos. Lo mismo encontró Mulder (67); este último autor también demostró la necesidad de molibdeno para la fijación de nitrógeno gaseoso por Azotobacter y Rhizobium.

F. Boro

Mulder (68) informó que el boro es esencial para el desarrollo de las raíces de las plantas y también para la formación de nódulos en las leguminosas. En ausencia de boro solamente se formaron nódulos rudimentarios, incapaces de fijar nitrógeno. Brenchley y Thorton (citados por Andrew 9) encontraron que los requerimientos de boro para la fijación de nitrógeno son mayores que para el crecimiento de la planta huésped. Sin embargo, los resultados obtenidos por Mulder (68) con arvejas fueron contrarios a esto.

Johnston (47) reportó que en ausencia de boro había acumulación de carbohidratos.

Crowder (27) trabajando con alfalfa notó que la aplicación de boro aumentó significativamente la producción en cada época de corte, mientras que el crecimiento de las plantas sin borax fue anormal. Las plantas difícilmente se desarrollaron y muchas no alcanzaron alturas mayores de 10 cm. Este mismo autor observó que en las puntas de crecimiento se formaron rosetas de hojas muy pequeñas, muchos de los folíolos se deformaron, se tornaron coriáceos y en un gran número de plantas apareció clorosis en las yemas terminales y el amarillamiento se extendió hacia la parte baja, ocasionando la muerte de muchas plantas.

Levedev (51) encontró que cuando el cáñamo crece asociado con lupinos, utiliza el nitrógeno de los nódulos de los lupinos. El afirmó que el boro estimuló el desarrollo del bacterio del nódulo de los lupinos y dio un efecto positivo sobre el crecimiento y desarrollo de la planta de cáñamo.

Echeverri (31) informó que la aplicación de fósforo tiene una marcada influencia en el establecimiento de la alfalfa y que la cal y borax y otros elementos menores estimulan el crecimiento.

Naftel (74) dijo que el Trifolium incarnatum "Crimson clover" responde favorablemente a la aplicación de boro en suelos donde los fertilizantes y cal residuales han variado el grado de acidez del suelo. Examinando las raíces tratadas con borato encontró que éstas eran muy vigorosas, mientras que las raíces no tratadas poseían sólo algunos nódulos.

Wayne y Bryan (112) reportaron una relación entre el calcio y el boro. Reeve y Shive (94) también hicieron referencia a la relación boro-calcio y además consideraron la relación boro-potasio; concluyeron que en plantas de tomate, a cualquier nivel de boro en el sustrato, hay un aumento progresivo en el contenido de boro en las plantas a razón como incrementa el potasio en el sustrato. Crecientes cantidades de calcio tienen el mismo efecto sobre bajos niveles de boro, pero a altos niveles de boro la toxicidad es marcadamente reducida por crecientes adiciones de calcio. Los síntomas de deficiencia de calcio y boro son similares en algunos aspectos como por ejemplo en que el crecimiento radical es perjudicado y se decoloran las raíces; en ambos casos el tejido apical es afectado. Rogers (97) encontró que frijol de soya, Trifolium hybridum "Alsike clover" y Lespedeza sericea no respondieron a las aplicaciones de borax en suelos que fueron altamente deficientes en boro para alfalfa y Trifolium incarnatum "Crimson clover". También Rogers demostró la importancia que tiene el boro en la producción de semillas, particularmente en leguminosas. Una de las pocas informaciones sobre las respuestas de las leguminosas tropicales a las aplicaciones de boro ha sido dada por Loustalot y Telford (55); encontraron que las deficiencias de boro reducen el tamaño de las raíces y el número y tamaño de los nódulos en Kudzú tropical.

MATERIALES Y METODOS

I. UBICACION DE LOS EXPERIMENTOS

Los experimentos se realizaron en un invernadero del Departamento de Energía Nuclear del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, situado en Turrialba, Costa Rica. Las coordenadas geográficas del Instituto son: latitud N 9° 56', longitud W de Greenwich 83° 35', altitud 602 m. s.n.m. El clima es subtropical muy húmedo con una temperatura media anual de 22.6°C y una precipitación pluvial media de 2582 mm.

II. MATERIAL VEGETATIVO USADO Y SIEMBRA

En los experimentos llevados a cabo se usaron semillas de Leucaena glauca, Stylosanthes gracilis y Stylosanthes guayanensis; las dos primeras fueron cosechadas del Jardín Agrostológico del Instituto el día 20 de febrero de 1962 para su uso posterior, mientras que las semillas de la especie Stylosanthes guayanensis fue proporcionada por el señor Arthur Semple.

Las semillas antes de ser usadas fueron seleccionadas mediante un cata-dor marca "South Dakota", usándose tan sólo las de tipo pesado. Fueron sembradas en macetas de metal, las cuales tuvieron un diámetro de 13 cm., una altura de 15 cm. y una capacidad para 1500 g. de suelo. Las macetas fueron recubiertas interiormente con bolsas de material plástico para evitar el posible contacto de las raíces con el metal de la maceta.

En estos experimentos se usó suelo y subsuelo de la localidad de Paraíso, del fundo del señor Ramón Madrigal. Estos suelos fueron previamente secados y cernidos en un tamiz con orificios de 2 mm. de diámetro. Se efectuó un análisis químico y físico de acuerdo a los diversos métodos especificados.

En cada maceta se sembraron 6 semillas. Donde se requirió, fueron

previamente inoculadas con inóculo C B 81 específico para Leucaena glauca, traído de Australia; el inóculo fue usado tanto para Leucaena como para Stylosanthes, ya que este último carecía de inóculo específico.

III. DISEÑO DE LOS EXPERIMENTOS

A. Experimento N° 1

En este experimento se usó suelo y subsuelo y la especie Stylosanthes gracilis, la cual fue sembrada el 24 de abril de 1962 y cosechada en dos épocas diferentes o sea a los 60 y 90 días después de la siembra.

En este experimento se adoptó el sistema factorial en bloques al azar, con 3 repeticiones para cada fecha de muestreo, siendo un total de 6 repeticiones, las que en conjunto dieron 120 macetas para suelo y 60 para subsuelo, como se explicará posteriormente.

Los tratamientos que se utilizaron fueron 20 para cada repetición, puesto que se trató de un factorial del tipo $2 \times 2 \times 5$. Este número de tratamientos resultó de las combinaciones de las variables que se estudiaron.

De acuerdo con las pautas establecidas para el estudio de la esencialidad de los elementos, se partió de un tratamiento completo o sea aquél que contenía todos los elementos esenciales para el normal desarrollo de la planta. A partir de éste se tomaron como tratamientos todos los elementos menos los en estudio que en este caso fueron: molibdeno y boro y un tratamiento en el cual se eliminaron los sulfatos de Cu, Zn, Mn, Fe, Mg.

Los tratamientos que se usaron en este trabajo fueron:

1. Niveles de los fertilizantes:
 - a. Testigo (suelo solo)
 - b. Tratamiento completo
 - c. Tratamiento completo menos B

- d. Tratamiento completo menos Ho
- e. Tratamiento completo menos sulfatos de Cu, Zn, Mn, Fe, Mg
(denominado tratamiento menos A)

- 2. Inóculo a dos niveles (con y sin)
- 3. Cal a dos niveles (0 y 4500 Kg./Ha.).

En el caso de subsuelo se siguieron los mismos tratamientos a excepción de la aplicación de inóculo que fue igual para todos los tratamientos, sugerencia hecha por el Dr. A. E. Kretschmer de la Universidad de Florida (comunicación personal), razón por la cual se utilizaron sólo 10 tratamientos y un total de 60 macetas.

B. Experimento N° 2

En relación con el experimento anterior, se llevó a cabo uno similar con la especie Leucaena glauca, utilizando suelo y subsuelo y variando los niveles de cal, pues en este caso se usaron 4500 y 9000 Kg./Ha.

Constó de 3 repeticiones que fueron sembradas el 13 de mayo de 1962 y cosechadas a los 90 días.

Los tratamientos fueron similares al anterior, dando un total de 60 macetas, pero con sólo una planta por maceta.

C. Experimento N° 3

Con miras a completar los datos obtenidos con los experimentos anteriores, se sembró el siguiente experimento el 13 de agosto de 1962 y se cosechó a los 80 días, en el cual se estudió la fijación de nitrógeno en el suelo, el contenido de éste en las raíces y en la parte aérea. Se usaron los niveles de 0, 15, 30 y 60 Kg. de nitrógeno por Ha. para averiguar su influencia en la nodulación y crecimiento de la leguminosa Stylosanthes guayanensis.

Consta de 13 tratamientos en los cuales se estudiaron además de los

niveles de nitrógeno los microelementos boro y molibdeno, permaneciendo constante en todos los tratamientos la dosis de 500 Kg./Ha. de cal y la presencia de inóculo.

La disposición experimental, tanto para suelo como para subsuelo, fue en bloques randomizados al azar, con 6 repeticiones, que hacían un total de 78 macetas para suelo y subsuelo respectivamente.

D. Disposición de las macetas

Las macetas fueron colocadas en mesas previamente acondicionadas, de tal manera que permitiesen que parte de la bolsa plástica entrase en contacto con un vaso parafinado, colocado debajo de la misma mesa, para recibir el agua perdida por percolación. Cualquier líquido que pasó fue devuelto a la maceta para evitar que los fertilizantes se perdiesen.

Las macetas estuvieron dispuestas al azar y fueron cambiadas de lugar cada 15 días. Todos los riegos se hicieron con agua destilada y agua de lluvia en ausencia de la anterior.

Las soluciones se aplicaron después de efectuada la siembra, a excepción de carbonato de calcio y superfosfato que se aplicaron directamente al suelo por no ser solubles en agua, razón por la cual se tuvo que mezclar bien con el suelo para que su distribución fuese uniforme en cada maceta. Los elementos y cantidades usadas de las diversas sales están incluidas en los Cuadros Nos. 1 y 2.

CUADRO N° 1

FERTILIZANTES Y SALES USADAS PARA STYLOSANTHES GRACILIS

Y LEUCAENA GLAUCA

Fuente de fertilizante	% de Elemento o compuesto	Fertili zante Kg./Ha.	Elemento o compuesto Kg./Ha.	Fertili zante mg./maceta	Elemento o compuesto mg./maceta
Superfosfato triple	46.0 P ₂ O ₅	544	250	408	187.7
Muriato de potasio	60.0 K ₂ O	140	84	105	63.0
Urea	46.0 N	50	108	81	37.3
SO ₄ Cu	40.0 Cu	17	6.7	12.6	5.04
SO ₄ Fe	36.0 Fe	17	6.22	12.6	4.53
SO ₄ Mn	37.0 Mn	17	6.05	12.6	4.66
SO ₄ Zn. 7 H ₂ O	23.0 Zn	17	3.86	12.6	2.90
SO ₄ Mg	20.0 Mg	66	13.20	49.4	9.88
CO ₃ Ca	39.7 Ca	4480.0	1778.5	3360.0	1333.0
Na ₂ MoO ₄ . 2 H ₂ O	40.0 Mo	1.12	0.448	0.84	0.33
Na ₂ B ₄ O ₇	9.0 B	22.4	2.16	16.80	1.51

CUADRO N° 2

SALES USADAS PARA STYLOSANTHES GUAYANENSIS

Fuente de fertilizante	% de Elemento o compuesto	Fertili zante Kg./Ha.	Elemento o compuesto Kg./Ha.	Fertili zante mg./maceta	Elemento o compuesto mg./maceta
PO_4HNa_2	50.0 P_2O_5	500.00	250.00	375	201
SO_4K	54.0 K_2O	168.00	91.00	126	68.1
Urea	46.0 N	130.00	60.00	97.5	44.8
SO_4Cu	40.0 Cu	17.00	6.72	12.6	5.04
SO_4Mn	36.0 Mn	17.00	6.05	12.6	4.53
SO_4Fe	37.0 Fe	17.00	6.22	12.6	4.66
$SO_4Zn. 7 H_2O$	23.0 Zn	17.00	3.86	12.6	2.89
SO_4Mg	20.0 Mg	66.00	13.20	49.4	9.88
SO_4Ca	29.0 Ca	560.00	162.40	420.0	122.0
$Na_2MoO_4. 2 H_2O$	40.0 Mo	1.12	0.448	0.84	0.33
$Na_2B_4O_7$	9.0 B	22.40	2.16	16.80	1.51

IV. DESCRIPCION DEL SUELO USADO

El suelo y subsuelo usado pertenecen a la serie de Paraíso que según los estudios realizados por Dóndoli y Torres (30) son suelos que se pueden clasificar como lateríticos, que revelan una fertilidad potencial insignificante como se ha podido comprobar con los análisis realizados.

La serie de Paraíso se encuentra localizada en los alrededores de la ciudad de Paraíso y se extiende de oeste a este, desde el río Barquero hasta un poco más allá del río Birrisito; por el sur le sirve de límite la serie Miscelánea de los Farallones que van hacia los ríos Agua Caliente y Reventazón. Cubre un área aproximada de 5000 Ha.

Se caracteriza por ser suelo laterítico más desarrollado de la zona estudiada. La roca madre la constituye una "Andesita hipersteno-augítica" muy meteorizada, aún a varios metros de profundidad.

Las características del perfil son las siguientes:

- A. 0 a 20 cm.: es de color pardo oscuro en húmedo y pardo claro en seco, arcilloso, de estructura granular media. Plástico y ligeramente adhesivo en húmedo y ligeramente duro en seco. Permeable, de regular a bajo contenido de materia orgánica. Presenta concreciones ferromagnéticas en forma de "perdigón" pequeño.
- B. 20 a 200 cm.: color pardo rojizo en húmedo y rojo amarillento en seco; con manchas amarillentas, rojizas y negras y mayor contenido de "perdigón". Arcilloso, de estructura terronosa media, que cuando seco y triturado entre los dedos fractura en agregados angulosos pequeños. Las raíces lo penetran con facilidad.

V. ANALISIS DE LABORATORIO REALIZADOS

En el laboratorio se hicieron las determinaciones de pH, tanto para suelo como para subsuelo, por el método del potenciómetro (100). Para esto se usaron dos muestras, una con agua en la relación 1:2.5 y otra con cloruro de calcio en la proporción 1:2.

También se determinó el contenido de materia orgánica, siguiendo el método de Walkley y Black (100). Para la determinación de bases intercambiables, la extracción se hizo por el método del acetato de amonio (46), la determinación de calcio y magnesio se efectuó por el método del versenato (100). El contenido de potasio se determinó por el fotómetro de llama (46) y para el fósforo se usó el método colorimétrico con molibdato de amonio (46).

En cuanto al análisis físico, se determinó la textura usando el método de Bouyoucos (25) y la densidad específica real por el método del frasco de gravedad específica (46).

VI. TOMA DE DATOS

Tanto en el Experimento N^o 1, como en el N^o 2, se hicieron las siguientes mediciones y contadas:

En la parte aérea se tomó peso húmedo, peso seco, diámetro de la base del tallo, altura de la planta, número de ramas laterales y número de hojas.

Raíces: se tomó la longitud máxima de las raíces, peso húmedo, peso seco y además se hizo el conteo y clasificación de nódulos.

En el Experimento N^o 3 se tomó sólo peso seco de la parte aérea y de las raíces y se efectuó una apreciación relativa de la nodulación. Se determinó también el contenido de nitrógeno de la parte aérea y raíz, usando el

método micro Kjeldahl (72). Para el análisis del contenido de nitrógeno del suelo y subsuelo se usó el método macro Kjeldahl (100).

VII. CONTEO DE NÓDULOS

Para poder efectuar el conteo de los nódulos se hizo primeramente un lavado cuidadoso de las raíces, usando un chorro fino de agua. Una vez lavadas y determinada la longitud y peso húmedo, las raíces fueron guardadas en un refrigerador hasta el momento de efectuar la contada de nódulos. Esta se hizo con la ayuda de una lupa de gran aumento de tal manera que permitiese realizar el trabajo con facilidad.

Los nódulos fueron separados en dos tamaños mediante un tamiz con perforaciones de 0.84 mm. de diámetro. La separación se hizo solamente en el caso de Stylosanthes gracilis que posee nódulos casi completamente esféricos y pequeños, lo que permite efectuar la clasificación con facilidad.

En Leucaena glauca los nódulos son de forma y tamaño variable, por lo que no se efectuó la clasificación. Una vez contados los nódulos con ayuda de un contómetro, fueron guardados en un refrigerador en frascos de vidrio, en cuyo interior se puso papel húmedo para conservar el material hasta el momento de la pesada.

Para el peso de las raíces, tallos y nódulos, el material se secó en una estufa a 70°C durante 48 horas y las pesadas se efectuaron en una balanza semiautomática tipo Mettler.

VIII. ANALISIS ESTADISTICOS

En relación a los diseños usados, se efectuaron los análisis correspondientes al tipo factorial. Estos análisis se hicieron en forma independiente para cada dato tomado; luego se usó la prueba de Duncan y el límite de significación para determinar la variabilidad de cada tratamiento y así poder determinar su efecto.