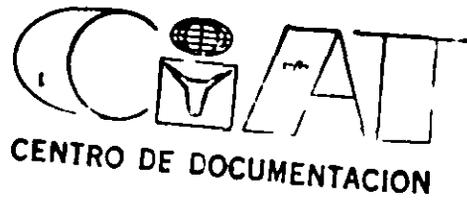


8-43



LA NODULACION Y LA FIJACION DE NITROGENO EN PHASEOLUS VULGARIS L

FOR P H GRAHAM

8243

EQUIPO DE PRODUCCION DE FRIJOLES DEL CIAT

1o IMPORTANCIA DE LA FIJACION DE NITROGENO

Los productos agronegociarios remueven cada año entre 100 y 110 millones de toneladas de nitrógeno de los suelos del mundo. Mucho más es perdido por lixiviación o volatilización de nitrógeno del suelo, como se muestra en la Tabla I. Aunque los fertilizantes nitrogenados reponen alrededor de 40 millones de toneladas por año, su uso se dificulta más cada año. En primer lugar la síntesis de urea es un proceso endotérmico, con su producción necesariamente ligado a la industria petroquímica. Se estima que 2% de todo el gas natural consumido en los Estados Unidos cada año va en la producción de urea. Han visto Uds. los problemas que tuvo los Estados Unidos el invierno pasado. En segundo lugar el uso de fertilizantes no es igual en todo el mundo, por ejemplo su consumición es de 58 kg/persona/año en los Estados Unidos y únicamente de 6.6 kg/persona/año en India.

La fuente más importante en conservar los niveles de nitrógeno combinado en el suelo es sin duda la fijación de nitrógeno. Es imposible llegar con precisión a la fijación de nitrógeno en el mundo cada año, pero las cifras sugeridas varían entre 100 y 175 millones de toneladas. La Tabla II distingue las fuentes de estos materiales.

2o FIJADORES DE NITROGENO

La capacidad de fijar nitrógeno es una propiedad exclusiva de ciertas algas azules y bacterias. Vétese en la Tabla III,

TABLA I

BALANCE DEL NITROGENO COMBINADO EN LOS SUELOS DEL MUNDO

SALIDAS PRINCIPALES (x 10⁶ TONELADAS)

| | |
|------------------------|-----------|
| EROSION Y ESCORRIENTOS | 100 - 110 |
| VOLATILIZACION | 165 |
| DEFITRIFICACION | 70 |

ENTRADAS PRINCIPALES (x 10⁶ TONELADAS)

| | |
|--------------------------|-----|
| ASORCION Y PRECIPITACION | 140 |
| FERTILIZACION QUIMICA | 175 |
| FERTILIZACION ORGANICA | 40 |

TABLA II

FIJACION BIOLOGICO EN EL MUNDO (X 10⁶ TONELADAS)

| | |
|-----------------------------|----|
| LEGUMINOSAS | 35 |
| ARROZ | 4 |
| PASTOS MEJORADOS | 45 |
| OTROS | 5 |
| EN BOSQUES (CULTIVADO Y NO) | 50 |
| EN EL MAR | 36 |

TABLA III

FIJADORES DE NITROGENO*

NO SIMBIOTICO

| | | |
|---------------------|---------------|-------------|
| <u>ALGAS AZULES</u> | NOSTOC, | ANABAFNA |
| <u>BACTERIAS</u> | CLOSTRIDIUM, | AZOTOBACTER |
| | AZOTOBACTER, | SPIRILLUM |
| | ENTEPOBACTER, | BACILLUS |

SIMBIOTICO

| | |
|--------------|------------------------|
| ALGAS AZULES | AZOLLA - ANABAFNA |
| BACTERIAS | RHIZOBIUM - LEGUMINOSA |
| | MYRICA - ACTINOPHYTES |
| | DIGITARIA - SPIRILLUM |
| | - AZOTOBACTER |

* ESTA LISTA NO PUEDE SER COMPLETA

que contiene organismos bastantes diferentes, por ejemplo las actinomycetes y el Enterobacter. Nótese también la distinción entre fijadores no simbóticos que viven y fijan afuera de otros organismos, por ejemplo Enterobacter o Azotobacter en el suelo, y los microbios llamados simbióticos, porque normalmente se encuentran ellos viviendo en asociación con otros organismos, cuando y recibiendo beneficios de la asociación. La asociación simbiótica más conocida es entre el Rhizobium y especies de leguminosas, aunque ya ha sido establecido que el Rhizobium también puede fijar nitrógeno en medio de cultivo, es decir asimbioticamente.

En la Tabla IV se muestra niveles de fijación en ciertas asociaciones. Nótese que en el sistema Rhizobium - leguminosas los niveles varían de 25-94 kg N ha⁻¹ año⁻¹. Pastos con más tiempo en el suelo llegan a los 300 kg/ha. No discutiré mucho aquí, pero puede ser también importante en el futuro la asociación Maíz-Spirillum, un descubrimiento brasileño. Todavía no se han precisado niveles de fijación y límites en esta asociación pero su potencial es impresionante.

TABLA IV

PARÁMETRO DE LA FIJACIÓN DE NITRÓGENO EN ALGUNAS LEGUMINOSAS

| <u>ESPECIES</u> | <u>MODULO PESO SECO</u> | <u>SNA</u> | <u>REDUCCION DE ACETILENO</u> | <u>FIJACION DE NITRÓGENO</u> |
|---------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| | mgm/planta | u rol/g Peso seco /ha | u rol/planta/ha | kg/ha/yr |
| P VULGARIS CV500 | 167-300 | 228 | 20-30 | 82 |
| P VULGARIS 20 CULTIVOS | 259-665 | 124-270 | 18,5-38,8 | 50-60 |
| G. MAY | 133 | 35-176 | 4-29 | 57-94 |
| A HYPOGEA | 80 | 135 | 27 | 35 |
| V U GVICULATA | 210-413 | 80-288 | 42 | 95 |
| P SATIVUM | 2-150 | 60-228 | 4-16 | 25 |

3o EL PROCESO DE LA INFECCION

Les ayudaré a entender los problemas que enfrenta el microbiólogo si es evolucionado aquí la secuencia de la nodulación.

La nodulación empieza cuando una célula de Rhizobium se encuentra en contacto con una raíz de su hospedero apropiado, (Fig 1). El Rhizobium multiplica en la plasmodesma del hospedero, recibiendo de él una cantidad apreciable de azúcares, vitaminas, etc. Pueden lograr con tal multiplicación hasta 10⁹ células/cera del suelo. Un producto del metabolismo del microbio es el ácido indolyl acético, siendo producido en cantidad suficiente para causar la división de la célula de la raíz. Los rhizobios entran a la raíz por la parte lateral del meristema, cuando así en la dirección de la raíz propia. En todo este proceso queda envuelto el hilo que es llamado hilo de infección producido por la planta. Si crece, crece. Dentro de la raíz el hilo de in-

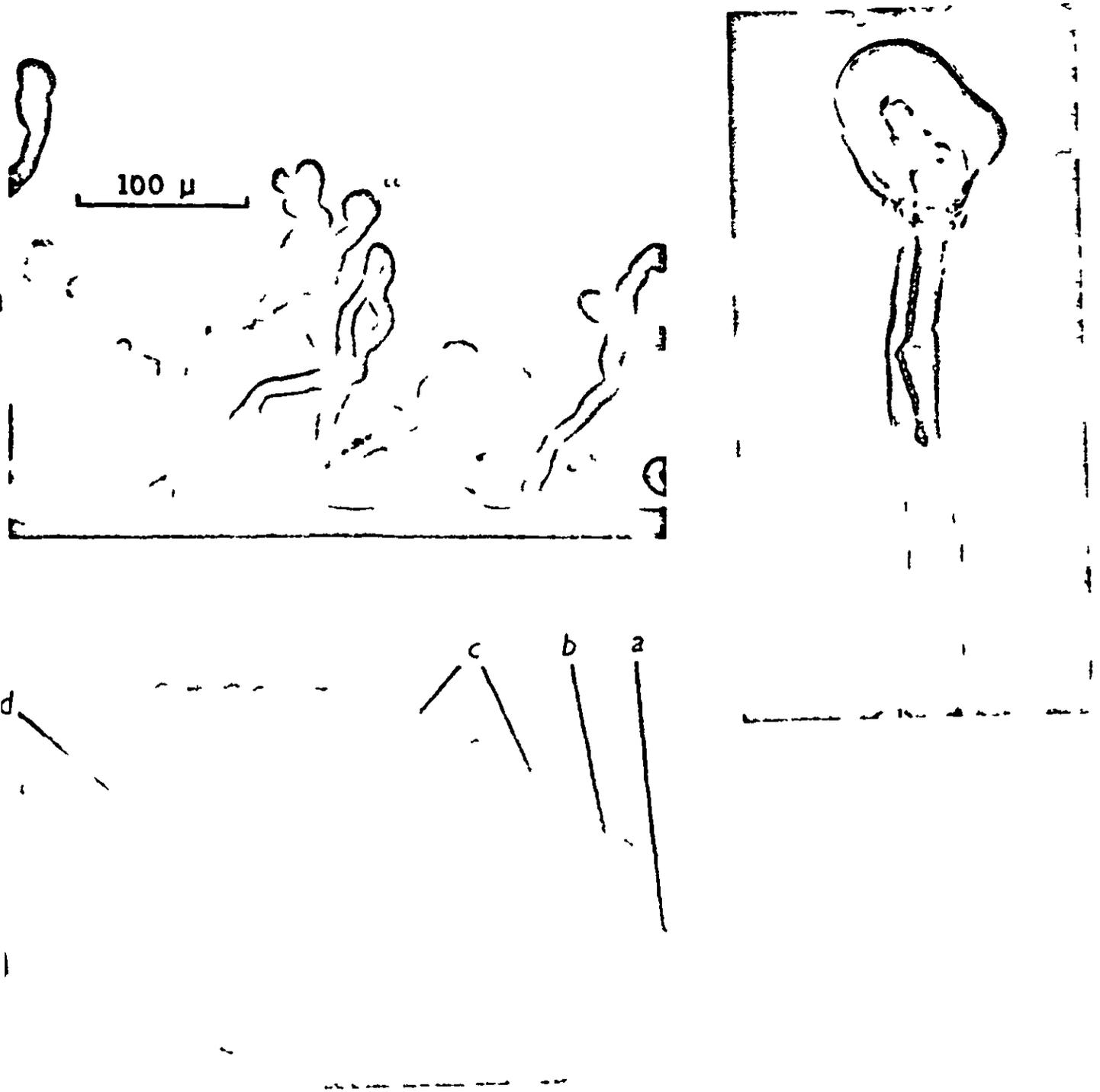


FIG I ETAPAS EN LA MODULACION DE UNA LEGUMINOSA
PARA DISCUSION AL EL T. T. O

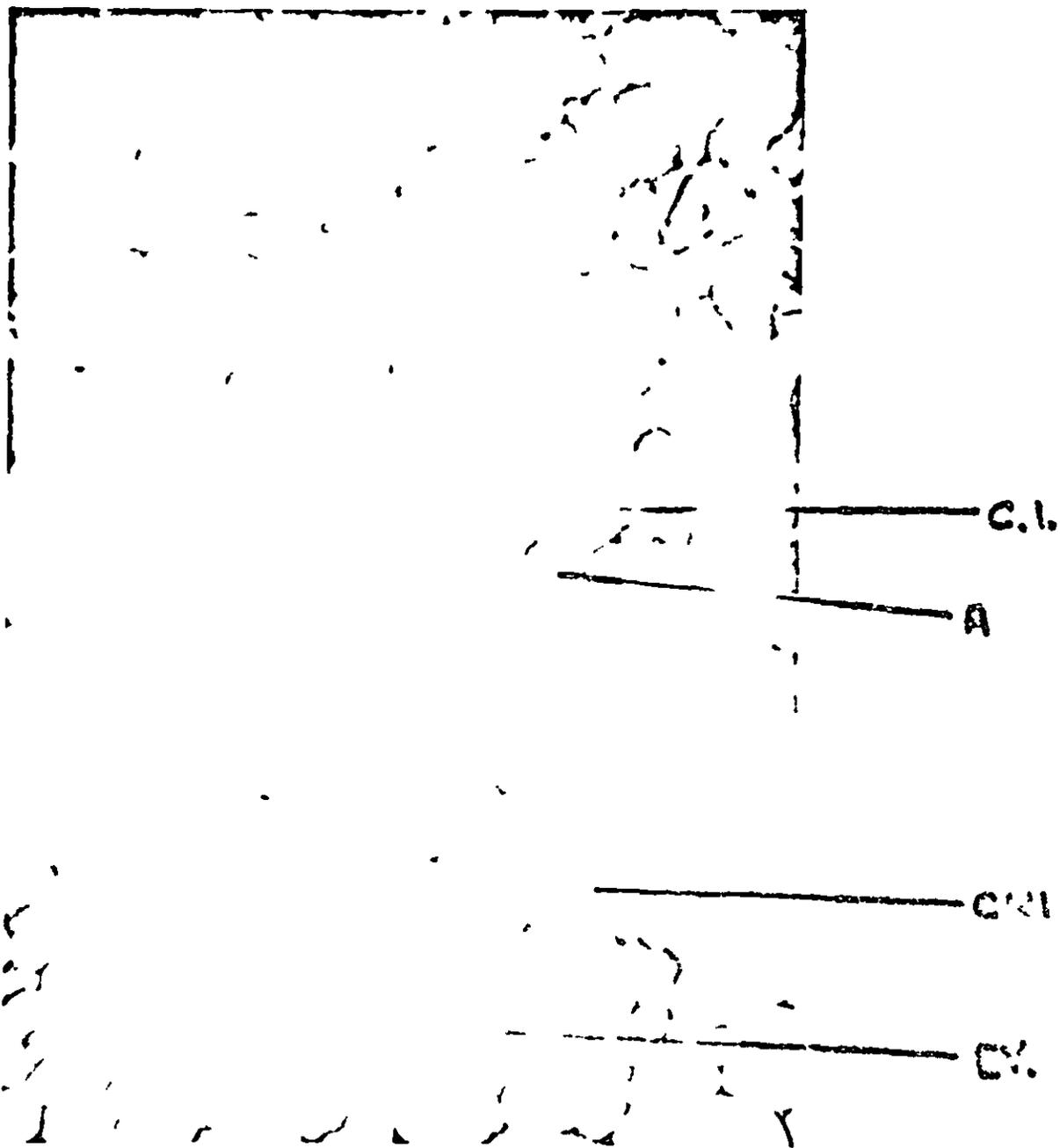


FIG 2 FIC DONTAL DE UN OMOLO DE PLACOMA VULVARIS
 C I = CILIAS INFECTADAS CON TRICOFITUM
 CNI = CILIOS NO INFECTADAS
 A = ALIQUOT
 E V = ELEMENTOS VASCULARES

fección debe encontrar una célula disomática, o no desarrolla nada. Una vez encontrada, el hilo de infección se penetra y adentro suelta los microbios. Nótese, no obstante, que ellos siguen siendo envueltos en una sustancia celulosa. Otra vez empiezan a multiplicarse los rhizobios, estimulando así la multiplicación de las células no infestadas pero vecinas de la célula disomática. Lo que resulta se llama un nódulo y cuando madura tiene la estructura que también se muestra la figura I. La zona a) es una zona creciendo pero sin células infestadas por Rhizobium. La b) es una zona de células infestadas pero con pocos rhizobios por célula. Además en esta zona los rhizobios todavía tienen su forma normal y vegetativa-un bacillo. La zona c) es la zona de la fijación activa y en la cual se encuentran los microbios ya cambiados en su forma hasta que se llama " bacterioides "

Es normal si la asociación esta trabajando bien que ésta zona contenga mucha hemoglobina y se aparece rojo. Finalmente la zona d) es una zona de descomposición. De suma importancia al funcionamiento del nódulo es el suministro de nutrientes por los elementos vasculares. En la figura II se puede ver al elemento vascular, las células infestadas y no infestadas y los granúlos de almidón.

4o FACTORES QUE INFLUYEN LA MODULACIÓN O FIJACIÓN

Los factores principales que afectan la nodulación o la fijación de nitrógeno por cualquier asociación Rhizobium-leguminosa son:

a) Presencia o suministro de un Rhizobium apropiado

- (i) Presencia en el suelo
- (ii) Forma y calidad de inoculantes
- (iii) Especificidad entre Rhizobium y leguminosa

- b) Acidez del suelo
- c) Temperatura del suelo
- d) Factores nutricionales
- e) Competencia entre Rhizobium
- f) Uso de fungicidas etc
- g) Factores culturales

4a PRESENCIA O SUMINISTRO DE UN RHIZOBIUM APROPIADO

Es fácil decir, como es la sección sobre el mecanismo de la nodulación, que la nodulación ocurre cuando una célula de Rhizobium se encuentra en contacto con la raíz de su hospedera apropiada. Lo mismo nos aplicaría lograrlo. En primer lugar, como será discutido más tarde, existen algunas especificidades entre Rhizobium y leguminosas. La más importante aquí, es raro encontrar en un suelo siendo cultivado por primera vez con una leguminosa particular, el Rhizobium apropiado ya existente en el suelo. En Panamá por ejemplo, si no sembramos una Rhizobium con el frijol, al suelo encontramos normalmente solo un nódulo por planta. Este comparelo con el otro de tal vez 200 a 300 nódulos/planta. En otros suelos la nodulación aumentaría un poquito cada siembra con focos de buena nodulación y en tal vez 5 años quedaría adecuada. Esto fue lo que pasó con la siembra de soja en el Valle del Cauca. Mientras tanto las plantas sin nodulación adecuada, mostrarían una deficiencia de nitrógeno y el agricultor no reñiría

zará más que 50-60% de su rendimiento potencial

Como suministrar el inoculante necesario?

Muchos materiales han sido utilizados, incluyendo microbios en caldo, en tubos inclinados, mezclado con suelo o bagasso. Lo que ha resultado mejor en casi todos los casos ha sido el microbio suspendido en turba o carbón, finamente molido y neutralizado con carbonato de calcio. Normalmente en tal mezcla, el microbio sobrevivirá hasta 6 meses, razón por la cual es normal poner una fecha de vencimiento.

Aunque parece sencilla, la mejoría de los países latinoamericanos todavía no cuentan con buenos inoculantes. Hace unos cuatro años cuando yo llegué aquí los agricultores de la región tenían tres alternativas en la siembra de una leguminosa: 1 - No inocular. Muchos adoptaron esta política posiblemente por experiencias malas con el uso de los inoculantes.

2 - Inocular con un inoculante local que en nuestra experiencia nunca contuvo ni un Rhizobium.

3 - Importar inoculantes de los Estados Unidos o de Australia.

El último es un proceso costoso y también tiene sus problemas. Demoras en el suministro del inoculante, más tiempo guardado en aduanas calientes o en el barco puede reducir notoriamente la viabilidad del inoculo. En Ecuador por ejemplo el IITA importó 6 marcas de inoculantes de los Estados Unidos y tres probaron en dos lugares. Como muestra la Tabla V, sólo una marca sirvió.

Tuvimos que buscar entonces cepas y portadores adaptadas a las condiciones colombianas. Importamos muchas cepas de varias partes del mundo y las probamos en condiciones esteriles y controlado, utilizando el sistema de jarros de Leonard y con el fin de escoger un número más manejable para ser probado en el campo. Del lado del portador comparamos varias turbas y carbones de diferente pH, textura y absorbencia para medir como sobreviven los rhizobios adentro. Como se puede apreciar en este mucha diferencia entre turbas y la única manera de adivinar cual es el mejor es probarlo.

Una vez suministrado el inoculante al agricultor todavía existen posibilidades para fracasar en su uso. Las siguientes son leyes para ser adoptadas en cualquier trabajo utilizando los inoculantes.

- 1o) Asegurar que el inoculante sea realmente para el frijol y no para otro cultivo con un nombre común similar. Por ejemplo no se puede utilizar con el Rhizobium vulgare los inoculantes para frijol de costa (Cajani) frijol de sierra (vigna) o frijol del noreste (Stylosanthes).
- 2o) Chequear que no haya pasado su fecha de vencimiento el inoculante.
- 3o) Guardar el inoculante en un lugar fresco, aunque no necesariamente en un refrigerador. Nunca dejarlo en el sol.
- 4o) Preparar solamente la semilla inoculada que se puede utilizar en un solo día. Una vez mezclado con la semilla en un ambiente seco, los microbios tienen una vida muy corta.

T A B L A V

NUMERO DE NODULOS POR PLANTA DE SOYA INOCULADA CON DIVERSAS MARCAS DE INOCULANTES

| | BOLICHE | PORTOVIEJO |
|--------------|---------|------------|
| NITRAGIN | 31 00 | 23 35 |
| E Z | 22 80 | 26 00 |
| URBANA | 12 50 | 12 80 |
| LEGUME AID | 1 00 | 5 20 |
| NOCTIII | 1 20 | 0 20 |
| DOMIAL | 0 50 | 0 50 |
| SIN INOCULAP | 3.00 | 0 00 |

5o) Usar la dosis recomendada (ver el apéndice) asegurando así que cada semilla reciba alrededor de 3 000 rizobias

6o) Prevenir contacto entre inoculante y fungicida o productos ácidos

4b ESPECIFICIDAD ENTRE RHIZOBIUM Y HOSPEDERO

Especificidad entre una cepa de Rhizobium y una leguminosa puede existir en dos niveles. Cuando de dos cepas de Rhizobium, solamente una nodula cierta leguminosa se habla de diferencias en 'infectividad'. Cuando ambas forman nódulos pero una asociación fija más que el otro, se habla de diferencias en 'efectividad'. Una cepa que fija bien con cierta leguminosa se llama "eficiente". Para tomar en cuenta diferencias en especificidad y efectividad en las leguminosas de importancia a la agricultura cada laboratorio debe mantener alrededor de 20 cepas e inoculantes diferentes.

En el caso del género Phaseolus, existen 4 especies importantes, P. vulgaris y P. coccineus que nodulan con una cepa de Rhizobium, y P. lunatus y P. acutifolius que necesitan otro. Diferencias entre cultivares en su capacidad para fijar nitrógeno con una cepa buena de Rhizobium ha sido estudiado en algún detalle en el CIAT. La respuesta a la inoculación de tal vez 50 cultivares ya ha sido estudiada, utilizando la técnica de reducción de acetileno. En la figura III el nivel de la fijación y su duración ha sido medida por varias variedades de diferentes hábitos de crecimiento. Nótese que el cultivar determinado Po35 no fija nitrógeno mientras que los envoltentes P590 y P717 fijan hasta 15 veces más. Hemos tratado de ver porque tanta diferencia. En primer lugar aparece que los arbustivos determinados absorben mucho más del nitrógeno del suelo en el período antes de la nodulación (Fig 4). Tal vez resulta del mejoramiento bajo condiciones de alta fertilidad, pero por cualquier razón puede causar una depresión en la fijación simbiótica. También hemos notado diferencias en patrón de carbohidratos en los nódulos y tallos. Los arbustivos tienden a almacenar mucho de su carbohidrato como almidón especialmente en el tallo y proporcionar relativamente poco a los nódulos. En cambio los volubles parecen mantener un alto porcentaje de su carbohidrato en una forma disponible y proporcionar más a los nódulos. Estamos estudiando ya el patrón del desarrollo de las hojas en los dos grupos.

Recientemente han aumentado mucho los estudios sobre la herencia de la nodulación o de la fijación. Hasta el momento han concentrado en estudios sobre lesiones genéticas y no han pensado en mejorar la fijación o nodulación actualmente posible en variedades comerciales. Ya los grupos de microbiología y mejoramiento del CIAT han empezado con cruces seleccionados, a estudiar la herencia de la fijación.

4c MOJADO

Las condiciones de secado en el suelo tienden a limitar no solamente la nodulación sino también la sobrevivencia de las cepas inoculadas. Como ejemplo puede verse en la nodulación del frijol cuando el 50% de las semillas se infectan a los 5-20 días después de la siembra, pero el porcentaje de infección se reduce a 5-20% cuando las semillas se secan por el aumento que puede ocurrir en la actividad del suelo, también por deficiencias de nitrógeno.

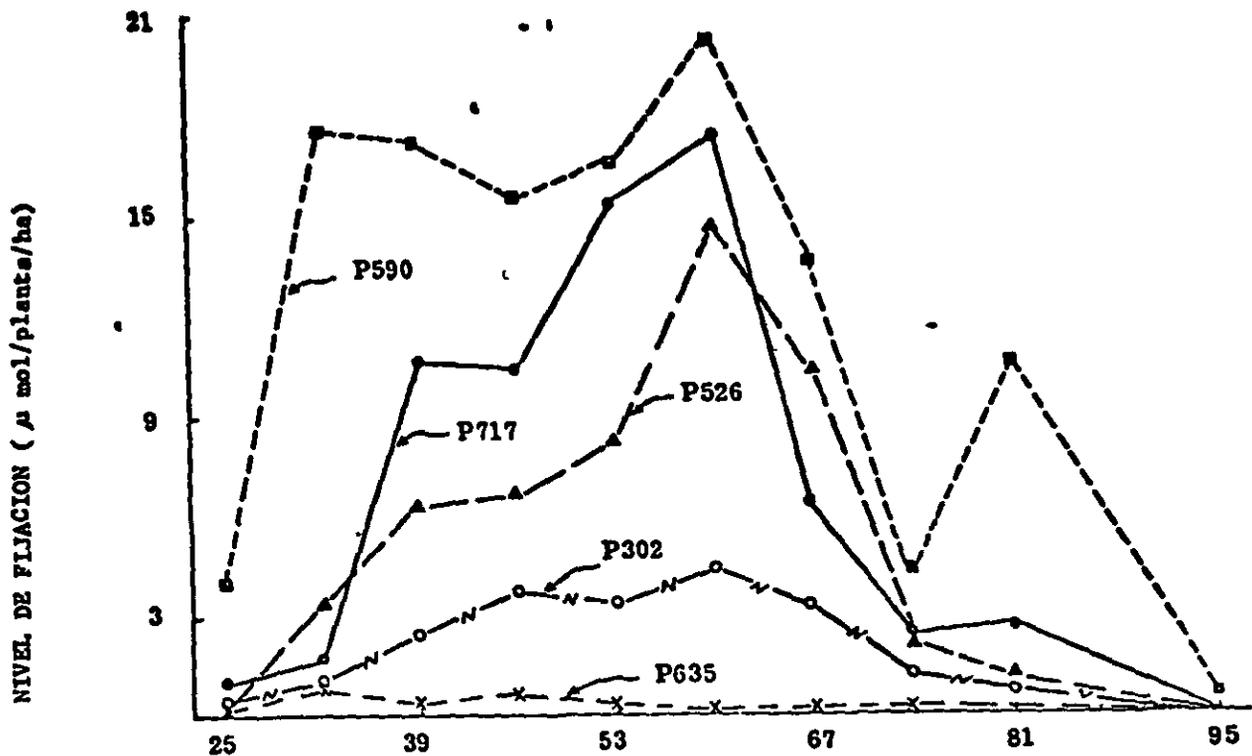


FIG III NIVELES DE FIJACION DE NITRÓGENO EN 5 CULTIVARES DE *PHASEOLUS VULGARIS* CON FUNCION DEL ESTADO

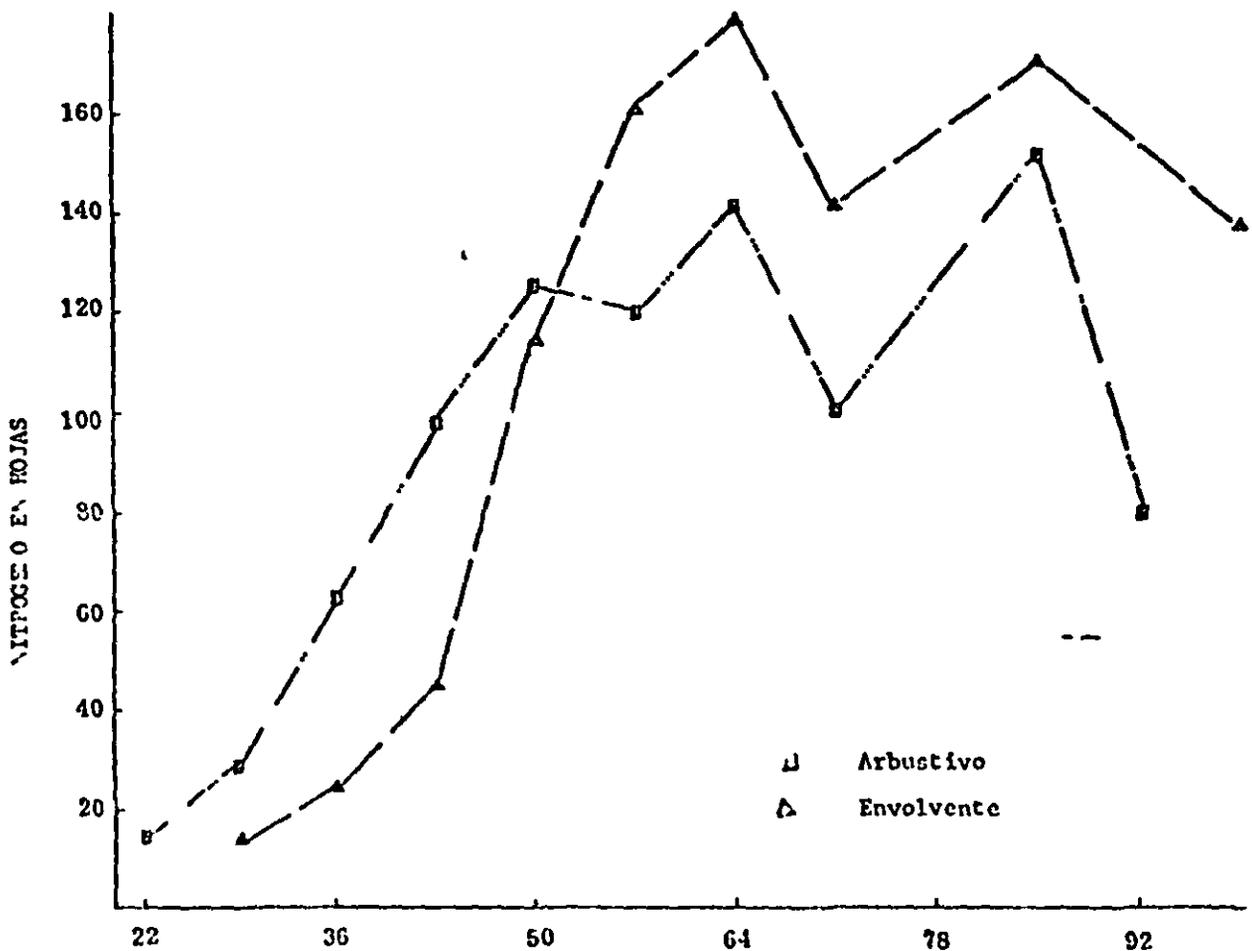


FIG IV NIVELES DE NITRÓGENO (µg/plante) EN HOJAS DE *PHASEOLUS VULGARIS*

Una manera de limitar este problema es revestir la semilla inoculada con CaCO_3 o la roca fosfórica. Normalmente se mezcla el inoculante en una suspensión a 40% con goma arábiga y cuando este bien mojada, se envuelve en CaCO_3 molido a 100 mallas. No se puede usar escorias tomas o superfosfato como polvo de revestimiento. La técnica es detallada en un apéndice. El valor de tal proceso se puede ver en la Figura V, utilizando un suelo de pH 4.3 de los Llanos Orientales y encalando a diferentes niveles. La línea por debajo indica semillas no inoculadas, la segunda, semilla inoculada pero no revestida y las de arriba, semilla inoculada y revestida con CaCO_3 o diferentes fuentes de roca. Puede ver claramente la respuesta en la nodulación como consecuencia de la peletización.

Una mejor evaluación de las cepas usadas también pueden ayudar en el control de acidez. En Leucaena por ejemplo unas cepas son menos sensibles al acidez que otras. En Pisum es posible escoger combinaciones de hospedero y Rhizobium que soporten mejor la acidez. En Phaseolus como probablemente mencionará el Dr. Hoelder, los frijoles carotas resisten mejor la acidez que los demás.

4d INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA NODULACION Y LA FIJACION

La temperatura influye no solamente en la sobrevivencia de las células en el suelo, sino también en la nodulación y en la fijación.

La sobrevivencia de Rhizobium en el suelo bajo temperaturas altas depende en el tipo de suelo (y especialmente su contenido de arcilla), la duración de las temperaturas elevadas y la cepa en uso. No existe ninguna inoculación hasta el momento de que el Rhizobium pueda tener endosporos. En pacas en turba debe enfrentar transporte en mala condiciones, almacenamiento bajo condiciones calientes en tienda o casa del agricultor, y luego en condiciones tal vez no favorables en el suelo. La figura siguiente muestra la caída en células sobrevivientes en inoculantes de trébol, almacenado bajo diferentes temperaturas.

La temperatura óptima para la nodulación varía con la leguminosa. En leguminosas tropicales la nodulación es restringida a los 10°C tiene óptima alrededor de 30°C y otra vez se reduce por encima de 30°C (Tabla 6). El trébol subtropical, que es similar al Phaseolus, la nodulación ocurre de los 7°C hasta los 33°C, con un óptimo entre 25-30°C. Por debajo de 22°C o por encima de 30°C los nódulos se forman lentamente. Tomando en cuenta una posible deficiencia en la nodulación y un alto índice de muerte en las células inoculadas, es normal recomendar un nivel de inoculación 2-3 veces lo normal para condiciones tropicales.

El efecto de la temperatura sobre la fijación de nitrógeno para P. vulgaris es muy marcado, la fijación siendo muy reducida de los 0 hasta los 20°C y con un óptimo de 20 a 30°C. A nivel del campo el óptimo corresponde a los lotes de experimento en Bogotá donde es posible conseguir niveles de fijación hasta 35 u mol C_2H_4 producida/planta/hora, mientras que el 35°C corresponde a los lotes del CIAT, en los cuales es raro conseguir la buena fijación.

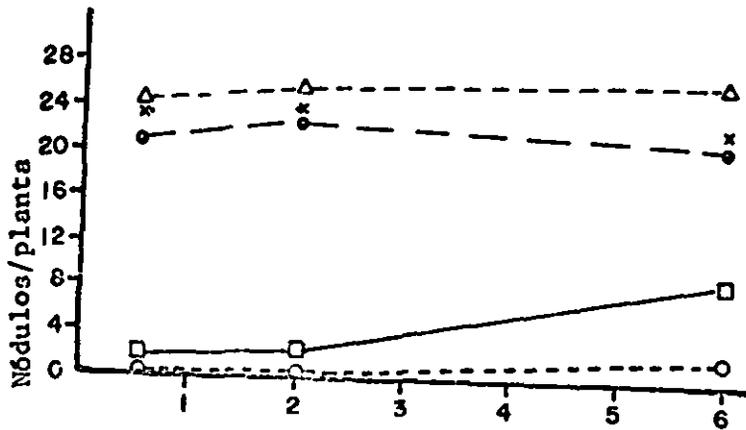


FIG 5 INFLUENCIA DEL REVESTIMIENTO Y DEL ECALAMIENTO SOBRE LA NODULACION EN PHASOOLUS VULGARIS

- SIN INOCULACION
- INOCULACION SIN REVESTIMIENTO
- ◊ REVESTIDA CON ROCA DE POYACA
- △ REVESTIDA CON ROCA DE CAPOLIZA
- △ REVESTIDA CON ROCA C-CO₃

TABLA 6

NÚMERO MEDIO DE NODULOS QUINCE DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACION DE LAS ESPECIES CON LA CEPA CB 756, Y DE HABER SIDO CULTIVADAS A CUATRO TEMPERATURAS DIFERENTES DE LA RAIZ CON UN PERIODO DE LUMINOSIDAD DE 14 HORAS DIARIAS Y A UNA TEMPERATURA DE LOS VASTAGOS ENTRE 25 y 30 GRADOS C

| E S P E C I E S | TEMPERATURA DE LA RAIZ (°C) | | | |
|-------------------------|--------------------------------|------|------|------|
| | 18 | 24 | 30 | 36 |
| GLYCINE WIGII | 0 | 2.1 | 8.1 | 0 |
| DESMODIUM ULCINATUM | 0 | 0.6 | 9.1 | 0.3 |
| DESMODIUM ILLINOENSE | 1.4 | 8.9 | 10.2 | 1.5 |
| STYLOSANTHUS SCABER | 0 | 9.2 | 13.7 | 5.5 |
| Phaseolus atropurpureus | 0 | 14.2 | 17.6 | 13.5 |

4e FACTORES NUTRICIONALES

Son muchos los ensayos sobre la influencia de la nutrición mineral en la nodulación y la fijación de nitrógeno en frijoles. Para la mayoría de los elementos puede decirse solamente que cualquier deficiencia o toxicidad que afecte la planta causará murmur, en la fijación. Fósforo, calcio, azufre, Mo, Co, y Nitrógeno combinado son las excepciones.

Co se puede eliminar de la discusión, siendo tan raro la deficiencia del elemento que se encuentra únicamente en partes de Australia y en suelos sumamente ácidos. Los nódulos tienen mucho cobalto, principalmente como vitamina B12, pero su función es aún desconocida.

Fósforo y azufre son necesarios principalmente en el suministro de energía al nódulo, y en ausencia, los nódulos se mantienen pequeños y no fijan. En muchos suelos de América Latina el problema de la fijación de fósforo exige la utilización de fertilizantes de alta disponibilidad, como el superfosfato. El Dr. Howeler comentará más.

El molibdeno es un componente de la enzima nitrogenasa y entonces indispensable a la fijación de nitrógeno. Molibdeno tiene la tendencia a ser menos disponible en suelos ácidos, su deficiencia siendo de suma importancia en Brasil. La cantidad de molibdeno que necesita por hectárea es alrededor de 4 onzas. Varios científicos han incorporado este microelemento en el polvo de recubrimiento de la semilla. Esta es una práctica peligrosa porque las sales que contienen lo varían muchísimo en su toxicidad al rhizobium y pueden causar una falla en la nodulación.

Es peligroso también mezclar la inoculación y los fertilizantes nitrogenados. El frijol cuando tiene nitrógeno suficiente tiende a restringir el suministro de energía a los nódulos y quedarán reducidos en número, tamaño y fijación. Cantidades tan bajas como 1/4 lb urea a la siembra pueden dañar la nodulación y hace pensar que no trabaje el inoculante. Existen dos posibles maneras de escapar al problema:

- a) Usar dosis pequeña de 10 kg urea como "brendador" con el inoculante.
- b) Aplicar el nitrógeno foliarmente cuando están en vaina las plantas.

4f COMPETENCIA DE LOS RIZOBIOS Y CERAS NATIVAS DEL SUELO

Una vez establecida en un suelo favorable, los rizobias son capaces de una eficiente simbiosis y sobrevivirán varios años, aún sin la presencia de su hospedera. Cuando estas ceras nativas del suelo tienen alta capacidad de efectividad con los leguminosos sembrados, no es este realmente un problema, el problema viene cuando no son eficientes con el frijol sembrado, siendo aún capaces de formar nódulos, pero que el número de nódulos por sistema radicular es más o menos constante (y controlado por el número de células diseadicticas de la raíz) cada nódulo formado por las ceras nativas del suelo limitará aún más el número formado por el rizobio eficiente.

Este es un problema grave en el Brasil y el momento no parece tener solución sencilla.

4g PRODUCTOS AGROPECUARIOS O AGENTES TÓXICOS

Son innumerables los estudios sobre el efecto de pesticidas sobre Rhizobium. Desafortunadamente la mayoría han sido hechos en medio de cultivo, y son pocos aplicables a la condición de campo.

Básicamente puede decir que los herbicidas, insecticidas y hormonas para plantas, aplicados a una dosis recomendada, no dañan ni la nodulación ni el Rhizobium en el suelo. En cambio los fungicidas tienden a ser muy tóxicos, especialmente los que contienen mercurio o cobre, y pueden ocasionar serias fallas en la nodulación. De los fungicidas, los carbonatos como Thiram ocasionarán menos problemas.

Cuando, como en el maíz, frijol o la soya, es indispensable tratar las semillas con fungicida debe minimalizar tiempo de contacto entre fungicida e inoculante, una manera de hacerlo es usar un inoculante granulado que se siembre por debajo de la semilla.

4h FACTORES CULTURALES

Los sistemas culturales usados en el cultivo del frijol han sido pocos estudiados, por su impacto en la fijación de nitrógeno, recientemente empezamos con aspectos de la densidad de la siembra y la asociación con maíz. Utilizamos tres cultivares representando tipos I, III y IV y un diseño de líneas paralelas que nos dio densidades de 55 hasta 1200 x 10³ plantas/ha.

Como puede ver figuras 6 y 7, cada tipo muestra un patrón diferente al cambio de densidad, el Tipo IV (Tipo IV) siendo muy sensible a la fijación al cambio de densidades, que tras en Tipo III no se presentó mucha diferencia. Afortunadamente en cada tipo el mejor espaciamiento por fijación correspondió al mejor para rendimiento. En este caso el efecto de espaciamiento afectó principalmente el peso de nódulos y no mucho el ratio de fijación. No obstante, la fijación mejor obtenida/ha fué con las siembras más densas.

En ensayos con maíz y frijol asociado utilizamos un frijol agresivo y un poco trepador, con un maíz criollo y un maíz mejorado. El frijol agresivo combatió con ambos maíces, reduciendo el peso seco por planta, mientras que el maíz criollo bajó notoriamente el desarrollo del frijol poco trepador. No obstante no fueron evidentes los efectos notorios en la fijación de nitrógeno e inclusive el peso fresco de los nódulos se incrementó, aparentemente el frijol gana suficiente luz aunque en la sombra del maíz.

BIBLIOGRAFIA GENERAL

- CRAHAM, P. H. & HALLIDAY, J. I. (1977) 'Inoculation and nitrogen fixation in genus Phaseolus in "Exploiting the legume Rhizobium symbiosis in tropical agriculture" University of Hawaii, Maui
- VICENT, J. H. (1974) Root nodule symbiosis with Rhizobium in 'The biology of nitrogen fixation A Quispel Ed North Holland Publishing Co pp 265-341
- VICENT, J. H. (1970) Manual práctico de rizobiología Factorial Hemisferio Sur, Buenos Aires 200 pp

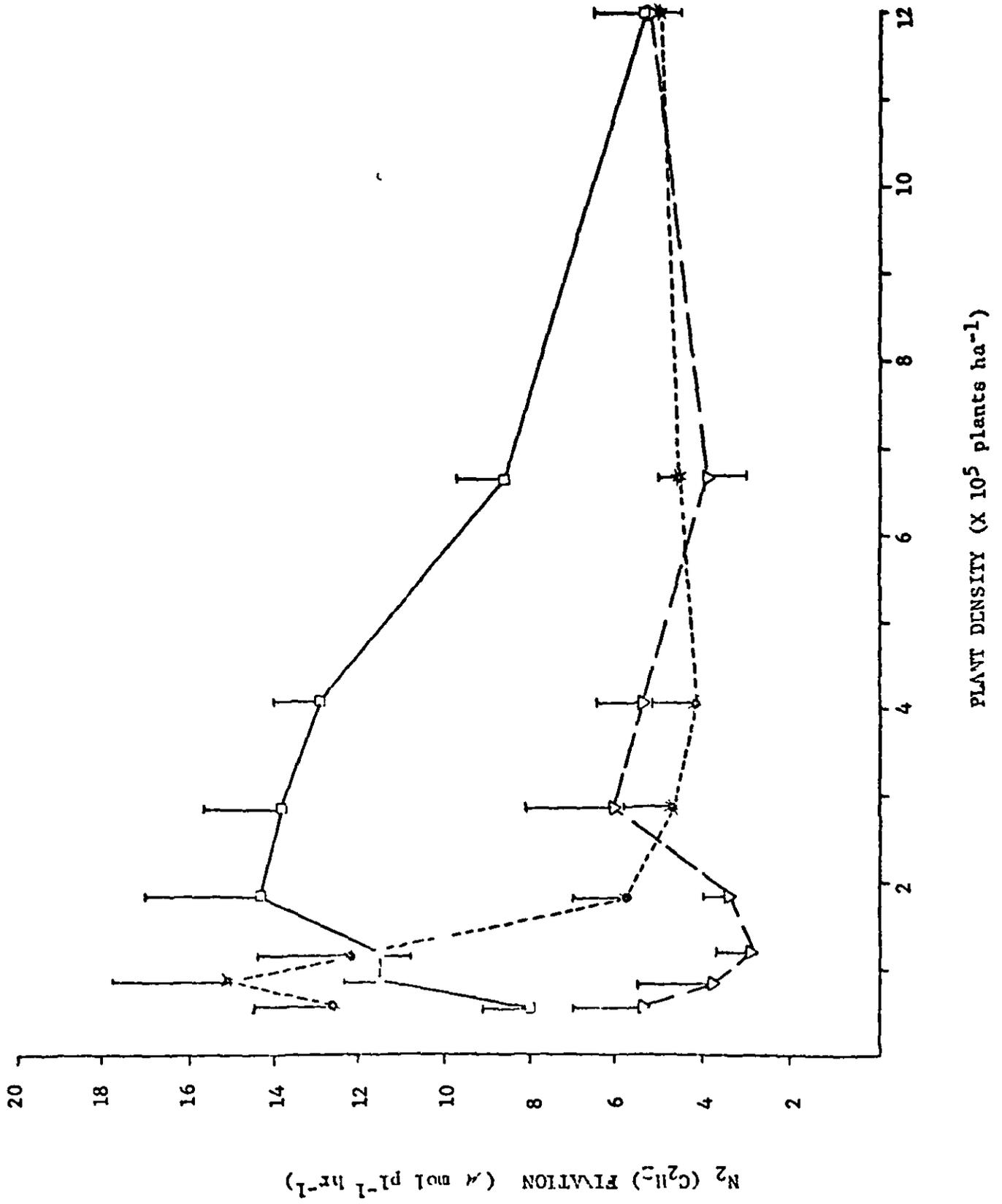


FIG 6 *Phacelia vulgaris* (cultivo de plantas) en densidades de 1, 2, 3, 4, 6 y 12 plantas x 10⁵ ha⁻¹. El eje de las abscisas representa la densidad de plantas y el eje de las ordenadas el nitrógeno fijado por planta y hora.

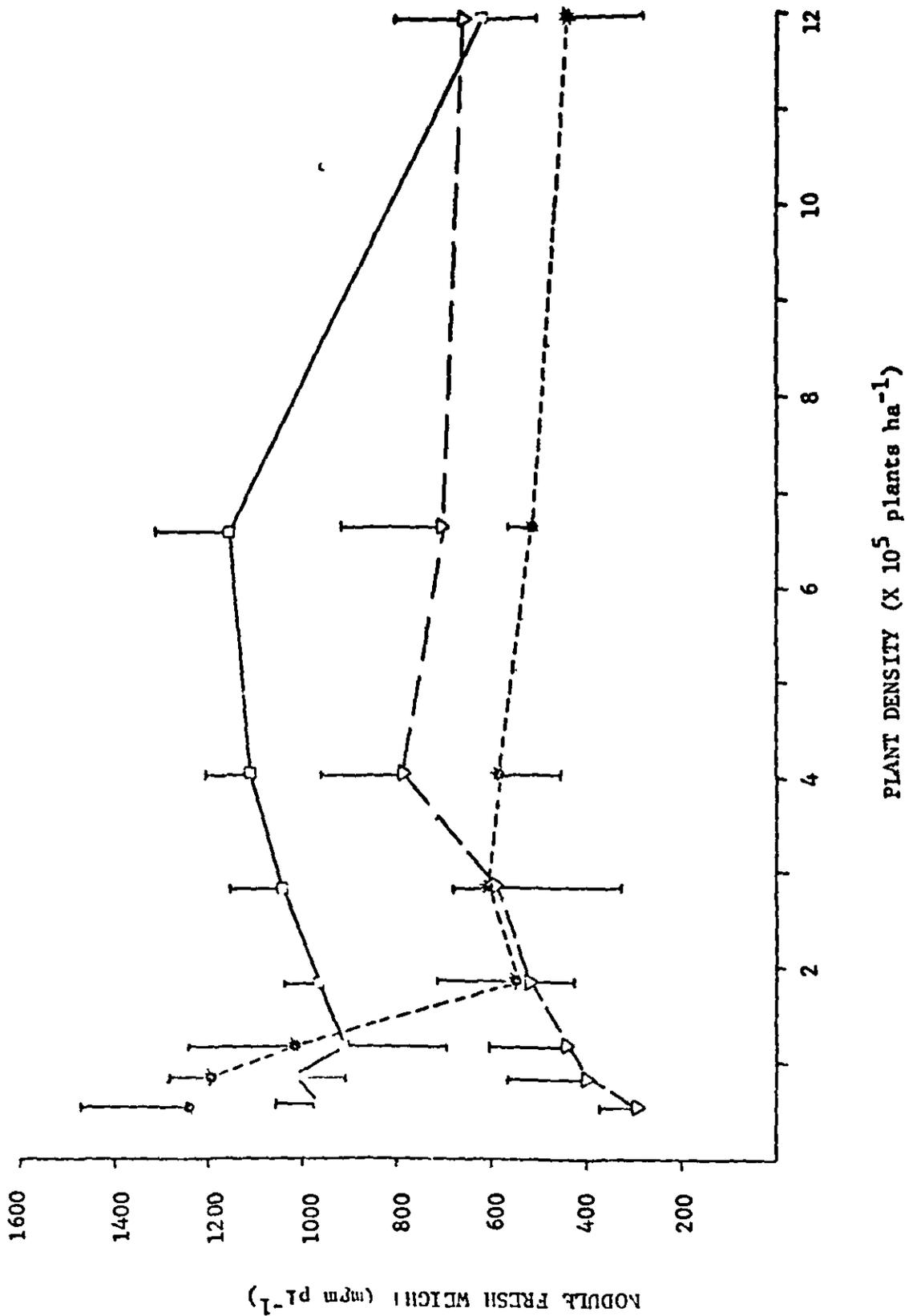


FIG 7 Peso fresco de nódulos en tres cultivares de *Thesacalus vulgaris*, como función de la densidad de la siembra

APPENDICES

1.- SISTEMA JARRO DE LEONARD ESTUDIAR FIJACION DE NITROGENO EN PHASEOLUS

(EL SISTEMA TOTAL SE ESTERILIZA CON UNA HORA EN EL HORNO DE PRESION)

