

Documento de Trabajo  
Working Document No. 64

I Parte

La simbiosis leguminosa - rizobio  
Actas de un taller sobre la evaluación,  
selección y manejo agronómico  
CIAT - PNUD



The legume - rhizobium symbiosis  
Proceedings of a workshop on evaluation,  
selection and agronomic management  
CIAT - UNDP

SB  
177  
.L45  
S54  
v.1



Documento de Trabajo No.64  
Working Document No. 64

LA SIMBIOSIS LEGUMINOSA-RIZOBIO:  
ACTAS DE UN TALLER SOBRE LA EVALUACION,  
SELECCION Y MANEJO AGRONOMICO

Septiembre, 1987

PARTE I

editado por Rosemary Sylvester-Bradley  
y Judy Kipe-Nolt

CIAT/PNUD, 1990



THE LEGUME-RHIZOBIUM SYMBIOSIS:  
PROCEEDINGS OF A WORKSHOP ON EVALUATION,  
SELECTION AND AGRONOMIC MANAGEMENT

September, 1987

PART I

edited by Rosemary Sylvester-Bradley  
and Judy Kipe-Nolt

CIAT/UNDP, 1990

## CONTENIDO DE LAS TRES PARTES

## CONTENTS OF THE THREE PARTS

PARTE I / PART I	Página/ Page
INTRODUCCION (ESPAÑOL)	11
INTRODUCTION (ENGLISH)	15
RESUMENES EN ESPAÑOL DE LOS TRABAJOS DE INVESTIGACION	18
ENGLISH SUMMARIES OF RESEARCH PAPERS	32
GRUPO DE TRABAJO I: TECNICAS PARA LA EVALUACION AGRONOMICA DE LA SIMBIOSIS; SUB-GRUPO PASTOS. Reinaldo Bertola Cantarutti, Rosemary Sylvester-Bradley y Esteban Arosemena.	47
GRUPO DE TRABAJO I; SUB-GRUPO FRIJOL Y SOYA. Joann Roskoski, Paulina Pineda y Judy Kipe-Nolt.	54
GRUPO DE TRABAJO II: MANTENIMIENTO Y CARACTERIZACION DE RIZOBIOS. María Inés Castellanos, Mirta López, Lidieth Uribe, Elias Ramirez y Maria Valdés.	60
GRUPO DE TRABAJO III: CONTROL DE CALI- DAD Y METODOS DE INOCULACION. Marga- rita Ramirez, J. Kolling y Gaspar González Cu.	64

	Página/ page
GRUPO DE TRABAJO IV: ANALISIS ESTADISTICO DE DATOS DE RENDIMIENTO Y NODULACION. J.J. Soto, M. Guzmán, J.C. Rosas, M. Tang y E. Granados.	68
GRUPO DE TRABAJO V: ENSAYOS DEL TIPO ETAPA III (MANEJO AGRONOMICO DE LA SIMBIOSIS). J.F. Aguirre, G. Hernández, P. Selbach, C. Reyes y O. Coto.	71
GRUPO DE TRABAJO VI: TRABAJO EN EQUIPO Y COMUNICACIONES. Stela Midlej Silva, Rolando Aguilera, Trudy Brekelbaum, Silos Gonzales y Renato Valenzuela.	76
WORKING GROUP I: TECHNIQUES FOR THE AGRONOMIC EVALUATION OF THE LEGUME-RHIZOBIUM SYMBIOSIS; PASTURE SUBGROUP. Reinaldo Bertola Cantarutti, Rosemary Sylvester-Bradley and Esteban Arosemena.	81
WORKING GROUP I; BEANS AND SOYBEAN SUBGROUP. Joann Roskoski, Paulina Pineda and Judy Kipe-Nolt.	87
WORKING GROUP II: MAINTENANCE AND CHARACTERIZATION OF RHIZOBIUM STRAINS. María Inés Castellanos, Mirta López, Lidieth Uribe, Elias Ramirez and María Valdés.	93

	Página/ page
WORKING GROUP III: INOCULANT QUALITY CONTROL AND INOCULATION METHODS. Margarita Ramirez, J. Kolling and Gaspar Gonzalez Cu.	97
WORKING GROUP IV: STATISTICAL ANALYSIS OF YIELD AND NODULATION DATA. J.J. Soto, M. Guzmán, J.C. Rosas, M. Tang and E. Granados.	101
WORKING GROUP V: STAGE III TYPE EXPERIMENTS (AGRONOMIC MANAGEMENT OF THE SYMBIOSIS). J.F. Aguirre, G. Hernandez, P. Selbach, C. Reyes and O. Coto.	104
WORKING GROUP VI: TEAMWORK AND COMMUNICATIONS. Stela Midlej Silva, Rolando Aguilera, Trudy Brekelbaum, Silos Gonzales and Renato Valenzuela.	109
DIRECCIONES DE LOS PARTICIPANTES/ ADDRESSES OF PARTICIPANTS	114

## PARTE II / PART II

### TRABAJOS DE INVESTIGACION: LEGUMINOSAS FORRAJERAS TROPICALES / RESEARCH PAPERS: TROPICAL FORAGE LEGUMES

I. EVALUACION DE LA NECESIDAD DE INOCULAR, RESPUESTAS A LA INOCULACION Y A LA APLICACION DE MOLIBDENO EN LEGUMINOSAS FORRA-	134
---	-----

JERAS EN SUELOS DE LA REGION CENTRAL DE PANAMA. (EVALUATION OF THE NEED TO INOCULATE, AND RESPONSES TO INOCULATION AND MOLYBDENUM APPLICATION IN SOILS FROM THE CENTRAL REGION OF PANAMA).

Esteban Arosemena, Rodolfo Morales y Rosemary Sylvester-Bradley.

- II. EVALUACION EN EL CAMPO DE RESPUESTAS A LA INOCULACION CON RIZOBIOS Y PRODUCCION DE MATERIA SECA DE TRES LEGUMINOSAS FORRAJERAS TROPICALES EN EL SUELO NEUTRO DE LA COSTA DE CHIAPAS, MEXICO. (FIELD EVALUATION OF YIELD AND RESPONSES TO RHIZOBIUM INOCULATION IN THREE TROPICAL FORAGE LEGUMES IN NEUTRAL SOIL FROM THE CHIAPAS COAST, MEXICO). 148

J.F. Aguirre Medina y M. Valdés

- III. LA EVALUACION DE LA SIMBIOSIS ENTRE RIZOBIOS INTRODUCIDOS Y NATIVOS, Y CUATRO LEGUMINOSAS FORRAJERAS EN CILINDROS CON SUELO SIN DISTURBAR DE LA COSTA DE CHIAPAS, MEXICO. (EVALUATION OF THE SYMBIOSIS OF INTRODUCED AND NATIVE RHIZOBIA WITH FOUR TROPICAL FORAGE LEGUMES IN CORES OF UNDISTURBED SOIL FROM THE CHIAPAS COAST, MEXICO). 158

J.F. Aguirre Medina, María Valdés y R. Sylvester-Bradley.

- IV. EFECTO DE LA INOCULACION EN Centrosema pubescens, Macroptilium atropurpureum y Teramnus labialis EN CILINDROS CON SUELO FERRALITICO ROJO NO DISTURBADO, ESTADO DE MATANZAS, CUBA. (EFFECT OF INOCULATION ON Centrosema pubescens, Macroptilium atropurpureum AND Teramnus labialis IN UNDISTURBED CORES OF A RED FERRALITIC SOIL, MATANZAS, CUBA).

172

Miguel Tang

- V. EVALUACION DE LA NECESIDAD DE INOCULAR 28 LEGUMINOSAS FORRAJERAS EN CILINDROS CON SUELO NO DISTURBADO DE BAYAMO, CUBA. (EVALUATION OF THE NEED TO INOCULATE 28 FORAGE LEGUMES IN UNDISTURBED SOIL CORES FROM BAYAMO, CUBA).

178

Mirta López

- VI. EVALUACION DURANTE EL ESTABLECIMIENTO DE Centrosema pubescens 438 EN SU RESPUESTA A LA INOCULACION EN PINAR DEL RIO, CUBA. (FIELD EVALUATION OF THE INOCULATION RESPONSE OF Centrosema pubescens 438 DURING ESTABLISHMENT AT PINAR DEL RIO, CUBA).

186

Mirta López

- |   | Página/<br>Page |
|---|-----------------|
| VII. RESULTADOS PRACTICOS DE LA INOCULACION DE LA SOYA V9 PARA PRODUCCION DE FORRAJE Y GRANO PARA LA ALIMENTACION ANIMAL. (PRACTICAL RESULTS ON THE INOCULATION OF SOYBEAN V9 FOR PRODUCTION OF FORAGE AND GRAIN AS ANIMAL FEED.  | 193             |
| Mirta López y Nicolás Echevarría  |                 |
| VIII. SOBREVIVENCIA DE RIZOBIOS EN SEMILLAS USANDO INOCULANTES EN BASE A TURBA ESTERIL, PROCEDENTE DE CUBA, COLOMBIA Y AUSTRALIA. (SURVIVAL OF RHIZOBIA ON SEEDS USING INOCULANTS IN GAMMA IRRADIATED PEAT FROM CUBA, COLOMBIA y AUSTRALIA).  | 202             |
| Mirta López   |                 |
| IX. EVALUACION DE LA SIMBIOSIS LEGUMINOSA-RIZOBIO EN SUELOS DE PASTURA DEGRADADA Y BOSQUE, EN <u>Pueraria phaseoloides</u> , <u>Desmodium ovalifolium</u> y <u>Stylosanthes guianensis</u> , ESTADO DE BAHIA, BRASIL. (EVALUATION OF THE LEGUME-RHIZOBIUM SYMBIOSIS IN DEGRADED PASTURE AND FOREST SOILS, BAHIA, BRAZIL, IN <u>Pueraria phaseoloides</u> , <u>Desmodium ovalifolium</u> AND <u>Stylosanthes guianensis</u> ). | 207             |
| Reinaldo Bertola Cantarutti y Stela Dalva Vieira Midlej Silva.  |                 |



- X. EFECTIVIDAD DE CEPAS NATIVAS E INTRODUCIDAS DE RIZOBIOS CON LEGUMINOSAS FORRAJERAS TROPICALES EN UN SUELO DE PASTURA DEGRADADA EN PUCALLPA, PERU. (EFFECTIVENESS OF NATIVE AND INTRODUCED RHIZOBIUM STRAINS ON TROPICAL FORAGE LEGUMES IN A DEGRADED PASTURE SOIL, PUCALLPA, PERU).

220

C. Reyes, S. Gonzales y M. Ara

- XI. USO DE CILINDROS CON SUELO NO DISTURBADO, Y ESTABLECIMIENTO POR LABRANZA MINIMA PARA LA EVALUACION DE CEPAS DE RIZOBIOS EN Arachis pintoi. (USE OF UNDISTURBED SOIL CORES AND REDUCED TILLAGE ESTABLISHMENT FOR EVALUATION OF RHIZOBIUM INOCULATION RESPONSES IN Arachis pintoi).

237

Rosemary Sylvester-Bradley, Dacier Mosquera y Jesús E. Mendez.

### PARTE III / PART III

#### TRABAJOS DE INVESTIGACION: FRIJOL Y SOYA RESEARCH PAPERS: BEANS AND SOYBEANS

- XII. EFFECT OF INOCULATION ON NODULATION AND YIELD OF CARIOCA, A RECENTLY RELEASED BEAN VARIETY IN MBALA, ZAMBIA; NODULATION WITH THE NATIVE RHIZOBIUM POPULATION AND N FERTILIZER RESPONSE OF A RANGE OF BEAN GERMPLASM. (EL EFECTO DE LA INOCULACION

264

SOBRE LA NODULACION Y RENDIMIENTO DE CARIOCA, UNA VARIEDAD RECIENTEMENTE LANZADA EN MBALA, ZAMBIA; NODULACION CON CEPAS NATIVAS Y RESPUESTAS A LA FERTILIZACION NITROGENADA DE UN RANGO DE GERMOPLASMA DE FRIJOL).

Martin N. Mbewe

- XIII. SELECCION DE CEPAS DE Rhizobium phaseoli Y SU EVALUACION EN FINCAS DE AGRICULTORES EN COSTA RICA. (SELECTION OF Rhizobium phaseoli STRAINS AND THEIR EVALUATION IN ON-FARM TRIALS IN COSTA RICA). 273

Lidieth Uribe y Germán Hernandez C.

- XIV. AISLAMIENTO Y EVALUACION DE CEPAS DE Rhizobium phaseoli EN EL SALVADOR. (ISOLATION AND EVALUATION OF Rhizobium phaseoli STRAINS IN EL SALVADOR). 283

Paulina Pineda.

- XV. EVALUACION DE LA SIMBIOSIS ENTRE SEIS CEPAS DE Rhizobium phaseoli Y DOS VARIETADES DE FRIJOL COMUN BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO, CHIMALTENANGO, GUATEMALA (EVALUATION OF THE SYMBIOSIS BETWEEN SIX Rhizobium phaseoli STRAINS AND TWO BEAN VARIETIES UNDER GLASS-HOUSE CONDITIONS IN CHIMALTENANGO, GUATEMALA). 302

M. Guzmán , M.I. Castellanos y L. Suchini.

	Página/ Page
XVI. EFECTO DEL FOSFORO Y LA INOCULACION SOBRE LA NODULACION Y RENDIMIENTO EN SOYA. (THE EFFECT OF PHOSPHORUS AND INOCULATION ON NODULATION AND YIELD OF SCYBEAN).	313
R. Valenzuela y R. Candia.	
XVII. EFECTO DE LA INOCULACION DE TRES VARIEDADES DE SOYA EN COMPARACION CON FERTILIZACION NITROGENADA. (THE EFFECTS OF INOCULATION AND NITROGEN FERTILIZER APPLICATION ON THREE SOYBEAN VARIETIES).	319
A.M. Mostacedo, F. Navarro y R. Valenzuela	
XVIII. EVALUACION DE CEPAS DE <u>Bradyrhizobium japonicum</u> DE EL VALLE DEL CESAR, COLOMBIA. (EVALUATION OF <u>Bradyrhizobium japonicum</u> STRAINS IN THE VALLE DEL CESAR, COLOMBIA).	330
J. García P., M. Ramirez y F. Munévar.	

## INTRODUCCION

Es ampliamente reconocido que la fijación de nitrógeno por la simbiosis leguminosa-rizobio es un componente importante de la productividad en la agricultura tropical, especialmente en tierras marginales, por estar lejos de los sitios de mercadeo o por el tamaño pequeño de la finca y la pobreza de los agricultores. En tales sistemas de producción marginales no es factible usar fertilizantes costosos como la urea. El uso de prácticas de manejo que incrementen el aporte de nitrógeno al sistema a través de la simbiosis leguminosa-rizobio mejorarían los niveles de producción y su estabilidad. Aunque proyectos de investigación sobre los diferentes aspectos de la fijación de nitrógeno y transferencia de este nitrógeno a cultivos asociados han sido realizados en países desarrollados y en desarrollo, las técnicas requeridas son complejas y requieren equipos sofisticados. La mayor parte de la investigación se ha realizado en instituciones académicas y no necesariamente se traduce en términos relevantes para las necesidades de los agricultores o de las instituciones responsables en cada país de desarrollar tecnologías adecuadas para la transferencia a agricultores. Es necesario identificar combinaciones leguminosa-rizobio con capacidad mejorada para fijar nitrógeno y desarrollar técnicas sencillas para evaluar esto bajo condiciones locales. Se necesitan científicos capaces de realizar tales evaluaciones, e identificar técnicas de manejo apropiadas para incrementar el aporte de nitrógeno al sistema a través de la simbiosis leguminosa-rizobio.

En 1984 se inició un proyecto para establecer una red de trabajo con científicos de programas nacionales adiestrados en el uso de métodos apropiados para evaluar la fijación de nitrógeno en frijol (Phaseolus vulgaris) y en leguminosas forrajeras tropicales. Este proyecto titulado "Evaluación,

selección y manejo agronómico de la simbiosis leguminosa-rizobio" fué coordinado por el CIAT y financiado por el PNUD.

Los dos programas de CIAT que están trabajando con leguminosas (frijol y pastos tropicales) coordinan redes de científicos que trabajan en programas nacionales para desarrollar variedades de leguminosas mejoradas para ser usadas por los agricultores. Sin embargo, los programas nacionales tienen relativamente pocos recursos para trabajar sobre aspectos secundarios de la tecnología (rizobios, suelos, fitopatología ... etc). En muchas estaciones experimentales en América Latina y Africa hay limitada infraestructura de laboratorios e invernaderos. Se estableció la "Red Leguminosa-Rizobio" para fortalecer este aspecto de la tecnología y para estimular la colaboración entre los microbiólogos que trabajan en fijación simbiótica de nitrógeno y los agrónomos responsables de la selección de las leguminosas, adiestrándolos para trabajar en equipo. Esos equipos después realizan evaluaciones sencillas en invernadero y en el campo para identificar combinaciones leguminosa-rizobio con capacidad mejorada para fijar nitrógeno en suelos locales.

Se usó una estrategia de adiestramiento con 3 fases:

1) Cursos intensivos

Dieciocho científicos participaron en un curso intensivo de cuatro semanas en Noviembre de 1985 en MIRCEN, Porto Alegre, Brasil, organizado en colaboración entre NIFTAL, MIRCEN y CIAT, donde se enseñaron los métodos necesarios para la evaluación, bajo condiciones locales, de combinaciones leguminosa-rizobio ya identificadas como efectivas por ellos o por CIAT. Se hicieron varios cursos adicionales en CIAT con 5-6 participantes para adicionar nuevos equipos o para fortalecer los equipos existentes.

## 2) Fase práctica

Durante los cursos intensivos, los equipos microbiólogo-agrónomo planearon experimentos, los cuales después ejecutaron en sus instituciones, con asistencia técnica de CIAT y pequeñas cantidades de dinero para equipos y material de consumo.

## 3) Taller

En Agosto de 1987 los científicos de la red asistieron a un taller de una semana en CIAT. Cada uno de los equipos escribió y presentó un trabajo describiendo los resultados de los experimentos que realizaron durante la fase práctica. Estos artículos están incluidos en este documento. Además, cerca de la mitad del tiempo en el taller se dedicó a la discusión de seis aspectos de la metodología usada, y nuevas ideas para mejorarla. Todos los participantes asistieron a todos los grupos de trabajo, y los relatores resumieron la discusión. Las seis áreas de discusión fueron:

1. Evaluación agronómica de la simbiosis leguminosa-rizobio (cilindros con suelo, labranza mínima, experimentos usando macetas, cultivos intercalados etc.),
2. Conservación y caracterización de rizobios,
3. Control de calidad de inoculantes y métodos de inoculación,
4. Análisis estadístico de rendimiento y datos de nodulación,
5. Ensayos en finca (Evaluaciones de Etapa 3),
6. Trabajos en equipo y la comunicación.

Los resúmenes y conclusiones de los grupos de trabajo también se presentan en este documento.

Este es un "documento de trabajo". Los artículos de investigación incluidos aquí no son necesariamente las

versiones finales, y no se deben citar sin obtener la autorización previa del autor principal. Los artículos originales fueron editados y devueltos a los autores con unas preguntas y comentarios. Los autores respondieron a las preguntas y a los cambios que se habían hecho, finalizando las versiones que están incluidas en las Partes II y III. Desafortunadamente, varios autores no revisaron sus reportes después de haber sido editados. En estos casos la página con "Preguntas y Comentarios" ha sido incluida al final del informe.

Este documento es una publicación interna del CIAT, y no debe haber problema si los autores desean publicar sus datos en otra parte.

## INTRODUCTION

It is widely recognized that nitrogen fixation by the legume-rhizobium symbiosis is an important component of productivity in tropical agriculture, especially in farmland which is marginal either in terms of distance from the markets, or small farm size and the poverty of the farmers. In such marginal production systems the use of costly fertilizers such as urea is not feasible. The use of management techniques which increase the contribution of nitrogen to the system through the legume-rhizobium symbiosis, would improve production levels and their stability. Although a considerable amount of research on different aspects of legume nitrogen fixation and transfer of this nitrogen to associated crops has been done both in developed and developing countries, the techniques required are complex and require sophisticated equipment. Most of this research is done in academic institutions, and is not necessarily translated into terms which are relevant to the needs of farmers or the institutions in each country responsible for developing technologies suitable for transfer to farmers. It is necessary to identify specific legume-rhizobium combinations with improved capacity to fix nitrogen, and develop simple techniques to evaluate this under local conditions. Scientists able to carry out such evaluations and identify improved management techniques under local conditions are needed.

In 1984 a project was initiated to form a research network of national program scientists trained in the use of suitable methods for evaluating nitrogen fixation in beans (Phaseolus vulgaris) and tropical forage legumes. This project, entitled "Evaluation, selection and agronomic management of the legume-rhizobium symbiosis" was coordinated by CIAT, and sponsored by the UNDP.



The two CIAT commodity programs working with legumes (beans and tropical pastures) coordinate networks of scientists working in national programs to develop improved legume varieties for use by farmers. However, the national programs have relatively few resources for work on secondary aspects of the technology (rhizobium, soils, phytopathology etc.). At many experimental stations in Latin America and Africa there are only very limited laboratory and greenhouse facilities. The "Legume-Rhizobium Network" was established to strengthen this aspect of the technology and to emphasize increased collaboration between microbiologists working on symbiotic nitrogen fixation and agronomists involved in legume selection, by training them together as a team. These teams then carry out simple greenhouse and field evaluations to identify legume-rhizobium combinations with increased capacity to fix nitrogen in local soils.

A 3-phase training strategy was used:

1) Intensive courses

Eighteen scientists participated in an intensive 4 week course in November, 1985 at the MIRCEN, Porto Alegre, Brazil, run collaboratively between NIFTAL, MIRCEN and CIAT, where they were taught the methods necessary for evaluation of rhizobia and legume germplasm already selected by them or by CIAT, under local conditions. Several additional courses with 4-6 participants were held at CIAT to add new teams or strengthen existing ones.

2) Practical phase

During the intensive courses the microbiologist/agronomist teams planned experiments which they then carried out at their home institutions with technical assistance from CIAT and small amounts of money for equipment and consumables.

### 3) Workshop

In August, 1987 the scientists participating in the network attended a one-week workshop at CIAT. Each of the teams wrote and presented a paper describing results of the experiments they had conducted during the practical phase. These papers are included in this document. In addition, about half the time at the workshop was devoted to discussing six aspects of the methodology, and new ideas for improving it. All the participants attended all the working groups and the rapporteurs summarized the discussion. The six topics for discussion were:

1. Agronomic evaluation of the legume-rhizobium symbiosis (soil cores, minimum tillage, pot experiments, intercrops etc.),
2. Maintenance and characterization of rhizobia,
3. Inoculant quality control and inoculation methods,
4. Statistical analysis of yield and nodulation data,
5. On-farm experiments (Stage 3 evaluations),
6. Teamwork and communications.

Summaries and conclusions from the working groups are also presented in this document.

This is a "working document". The research reports presented are not necessarily final versions and should not be quoted without the authors' permission. The original research papers were edited and returned to the authors with a list of comments and questions. The authors responded to the questions and the changes that had been made, finalizing the versions that are included in Part II and III. Unfortunately several authors did not review their reports after they were edited. In these cases the page of "comments and questions" has been included at the end of the paper.

Since this is an internal CIAT publication, there should be no problem if authors wish to publish their data elsewhere.

RESUMENES EN ESPAÑOL DE LOS TRABAJOS  
DE INVESTIGACION PRESENTADOS

I. EVALUACION DE LA NECESIDAD DE INOCULAR, RESPUESTAS A LA INOCULACION Y LA APLICACION DE MOLIBDENO EN LEGUMINOSAS FORRAJERAS EN SUELOS DE LA REGION CENTRAL DE PANAMA.

Esteban Arosemena, Rodolfo Morales y Rosemary Sylvester-Bradley.

En un ensayo de campo en un ultisol de Calabacito, Panamá, con 30 ecotipos de leguminosas forrajeras tropicales de un rango de géneros (Stylosanthes (14), Centrosema (10), Pueraria (1), Desmodium (4) y Leucaena (1), se aplicaron 2 tratamientos (bajo N y alto N, ambos sin inocular). La respuesta a la aplicación de N fué mayor que 2 veces en la mayoría de los ecotipos, exceptuando algunos ecotipos de S. guianensis y S. macrocephala. Se observaron altos rendimientos de N y altas respuestas a N en Centrosema macrocarpum 5065, 5713, 5887 y 5062, C. brasilianum 5234, Pueraria phaseoloides 9900. Desmodium heterophyllum 349, Stylosanthes capitata 10280 y S. guianensis 1280, indicando que estas leguminosas posiblemente mostrarán altos rendimientos cuando se inoculan.

En un ensayo usando cilindros en suelo no disturbado, con tres suelos (Calabacito: Ultisol; Los Santos: Inceptisol; El Coco, Penomene: Inceptisol) se estudiaron respuestas a la inoculación y aplicación de molibdeno de Pueraria phaseoloides 9900 (kudzu) y Centrosema macrocarpum 5062. Se observaron incrementos marcados en rendimiento y en % de proteína. En suelo de Calabacito la respuesta a la inoculación (cepa CIAT 3101) y al molibdeno en materia seca de C. macrocarpum fué de 2-3 veces. Kudzú mostró respuestas de 2,1 y 1,4 veces a la inoculación (cepa CIAT 2434) en presencia y en ausencia de

molibdeno respectivamente, y la respuesta a Mo fué de 2,7 veces. También se observaron respuestas significativas a la inoculación y a la aplicación de Mo en suelo de El Coco. En suelo de Los Santos las respuestas a la inoculación fueron más pequeñas (1,3 y 1,2 veces para C. macrocarpum y kudzú respectivamente). Se concluye que la inoculación y la aplicación de Mo probablemente serán importantes para obtener buen establecimiento de leguminosas forrajeras en algunos suelos de la región central de Panamá, y que se deben realizar ensayos de campo para confirmar los resultados.

## II. EVALUACION EN EL CAMPO DE RESPUESTAS A LA INOCULACION CON RIZOBIOS Y PRODUCCION DE MATERIA SECA DE TRES LEGUMINOSAS FORRAJERAS TROPICALES EN EL SUELO NEUTRO DE LA COSTA DE CHIAPAS, MEXICO.

J. F. Aguirre y M. Valdés.

Se realizó un ensayo de campo en la estación experimental "Jericó" en la costa de Chiapas, México; el suelo es un fluvisol eútrico. Se aplicaron tres tratamientos (no inoculado, inoculado y fertilizado con N) a tres leguminosas (Centrosema brasilianum 5234, C. pubescens 5189 y Pueraria phaseoloides 9900), usando las cepas CIAT 3101, 590 y 2434 en los inoculantes para las tres leguminosas respectivamente. En el primer corte P. phaseoloides y C. brasilianum respondieron significativamente a la fertilización con N, y se observaron respuestas pequeñas pero no significativas a la inoculación. En el segundo corte las respuestas no fueron significativas lo que puede deberse parcialmente a la sequía que ocurrió en esta época. C. pubescens mostró rendimientos bajos y no respondió significativamente a los tratamientos. Se separaron vástago, hojas, pecíolo y rastrojo, pero no se observaron diferencias marcadas entre tratamientos, excepto en el tratamiento con N donde se produjo más rastrojo. Se concluye que en este suelo

relativamente fértil las respuestas a la inoculación probablemente serán pequeñas. Sin embargo, posiblemente al analizar el rendimiento de N (no se midió el % N) se observarían respuestas mayores, y otras cepas podrían ser más efectivas que las que se utilizaron aquí. Se deben considerar los suelos menos fértiles de la costa de Chiapas con mayor prioridad para la evaluación de la simbiosis.

### III. EVALUACION DE LA SIMBIOSIS ENTRE RIZOBIOS INTRODUCIDOS Y NATIVOS, Y CUATRO LEGUMINOSAS FORRAJERAS EN CILINDROS CON SUELO SIN DISTURBAR DE LA COSTA DE CHIAPAS, MEXICO.

J.F. Aguirre Medina, María Valdés y R. Sylvester-Bradley

Se obtuvieron cilindros con suelos sin disturbar de la estación "Jericó" (ver II), y se sembraron cuatro leguminosas (Centrosema brasilianum 5234, Pueraria phaseoloides 9900, C. macrocarpum 5065 y C. pubescens 438) sin inocular y con varias cepas inoculadas. C. brasilianum respondió significativamente a la fertilización con N en materia seca, pero ninguna de las cepas mostró efectos significativos. La cepa CIAT 3101 causó el mayor aumento (25%). Se observó nodulación abundante en el tratamiento sin inocular. P. phaseoloides respondió significativamente (32%) a la inoculación con la cepa CIAT 3918 (TAL 647) pero no a la fertilización con N ni a la inoculación con las cepas CIAT 2434, 3287, 643 o 3648; no hubieron efectos significativos sobre el número de nódulos. C. macrocarpum y C. pubescens mostraron respuestas significativas a la fertilización con N pero no a la inoculación con la cepa CIAT 3101. Se observaron efectos significativos sobre la producción de raíces y la relación vástago-raíz en algunos tratamientos. Se concluye que se debe probar la cepa 3918 en P. phaseoloides en el campo, y otras cepas en Centrosema spp. Sin embargo, los resultados muestran que las cepas nativas en este suelos son semi-efectivas con todas las leguminosas evaluadas.

IV. EFECTO DE LA INOCULACION EN Centrosema pubescens, Macroptilium atropurpureum Y Teramnus labialis EN CILINDROS CON SUELO FERRALITICO ROJO NO DISTURBADO, ESTADO DE MATANZAS, CUBA.

Miguel Tang

Se sembraron C. pubescens, T. labialis y M. atropurpureum en cilindros con suelo ferralítico rojo no disturbado (pH 6,3) sin inocular, inoculado con tres cepas (CIAT 1670, IH-002 e IH-101) y fertilizado con N. Se observaron aumentos significativos en el rendimiento de N debidos a la inoculación de C. pubescens con CIAT 1670 (21%) y T. labialis con IH-002 (83%). M. atropurpureum mostró rendimientos de N un poco, pero no significativamente, inferiores con inoculación y con fertilización con N que en el tratamiento sin inocular. Se concluye que C. pubescens y T. labialis pueden responder a la inoculación en este suelo, pero que M. atropurpureum o noduló efectivamente con las cepas nativas, o su crecimiento fué limitado por un factor que no sea N.

V. EVALUACION DE LA NECESIDAD DE INOCULAR 28 LEGUMINOSAS FORRAJERAS EN CILINDROS CON SUELO NO DISTURBADO DE BAYAMO, CUBA.

Mirta López

Se sembraron 28 ecotipos de los géneros Zornia (1), Centrosema (8), Stylosanthes (12), Desmodium (3), Leucaena (1), Teramnus (2), y Pueraria (1) en cilindros con suelo no disturbado de Bayamo, Cuba (pH 6,1) con dos tratamientos (bajo N y alto N, ambos sin inocular). Se observaron las respuestas mayores a la aplicación de N en los ecotipos de Stylosanthes especialmente S. capitata y S. macrocephala, algunos de los cuales no nodularon con las cepas nativas. S. guianensis 136 y

184 mostraron nodulación más abundante, y respuestas a N más pequeñas. Las respuestas a N de los ecotipos de Centrosema variaron ampliamente; C. macrocarpum 5887, C. acutifolium 5277 y C. pubescens 442 mostraron respuestas grandes en cuanto C. pubescens 438 y C. brasilianum 5234 mostraron altos rendimientos de N pero pequeñas respuestas a N, indicando una simbiosis efectiva con las cepas nativas. La Leucaena leucocephala también noduló efectivamente con las cepas nativas, en cuanto Terammus labialis noduló escasamente. Los resultados indican que se deben seleccionar cepas para la inoculación de T. labialis, S. capitata, S. macrocephala y algunos ecotipos de S. guianensis en este suelo, y que también puede ser necesario identificar cepas para la inoculación de algunos ecotipos de Desmodium y Centrosema.

VI. EVALUACION DURANTE EL ESTABLECIMIENTO DE Centrosema pubescens 438 EN SU RESPUESTA A LA INOCULACION EN PINAR DEL RIO, CUBA.

Mirta López

Se estableció un ensayo de campo para evaluar la respuesta de C. pubescens 438 a la inoculación con las cepas CIAT 1670, 1780 y 49, y a la fertilización con N. Se observó una respuesta significativa a la fertilización con N pero no a la inoculación, posiblemente debido al crecimiento muy lento de las plantas causado por el efecto de condiciones climáticas atípicas (encharcamiento seguido por sequía). Se concluye que se debe repetir el ensayo.

VII. RESULTADOS PRACTICOS DE LA INOCULACION DE LA SOYA V9 PARA PRODUCCION DE FORRAJE Y GRANO PARA LA ALIMENTACION ANIMAL.

Mirta López y Nicolás Echevarría

Se estudió en nivel de campo el comportamiento de la soya

V9 inoculada con las cepas ICA 8001 y tres cepas introducidas, y en dos testigos con y sin nitrógeno (ambos sin inocular), para la producción de forraje. Se observó el mayor rendimiento de N con la cepa ICA 8001, en cuanto la cepa Semia 5019 causó el mayor aumento de %N. A los 75 días, el rendimiento de N con ICA-8001 fué similar al rendimiento con 150 kg/ha.

En parcelas grandes de producción (9 ha) se sembró soya sin inocular en una área que había sido inoculada dos años antes. Se observó crecimiento vigoroso (46.9 t/ha de forraje verde) y abundante nodulación indicando que la cepa inoculada había persistido. El rendimiento de grano fué de 1,1 t/ha.

#### VIII. SOBREVIVENCIA DE RIZOBIOS EN SEMILLAS USANDO INOCULANTES EN BASE A TURBA ESTERIL, PROCEDENTE DE CUBA, COLOMBIA Y AUSTRALIA.

Mirta López

Se prepararon inoculantes con tres cepas de rizobios (CIAT 3101, ICA-4033 (Leucaena) e ICA 8001) en turba esterilizada por radiaciones gama procedente de Cuba, Colombia y Australia. Se evaluó la sobrevivencia en semillas de las respectivas leguminosas hospederas durante un período de 14 días. Se observó mayor sobrevivencia en la turba australiana para las tres cepas; la turba cubana mostró resultados intermedios, y la turba colombiana mostró la mayor mortalidad. El promedio de mortalidad durante los 14 días de almacenamiento de las semillas inoculadas fué de solamente 1,8 logs para la turba australiana, en cuanto para la turba cubana y colombiana fué de 3,7 y 4,3 logs respectivamente. No se sabe cual es la causa de estas diferencias; solamente se observan tales diferencias en semillas inoculadas, en cuanto en el paquete de inoculante la sobrevivencia es adecuada para los tres tipos de turba.



IX. EVALUACION DE LA SIMBIOSIS LEGUMINOSA-RIZOBIO EN SUELOS DE PASTURA DEGRADADA Y BOSQUE, EN Pueraria phaseoloides, Desmodium ovalifolium Y Stylosanthes guianensis, ESTADO DE BAHIA, BRASIL.

Reinaldo Bertola Cantarutti and Stela Dalva Vieira Midlej Silva.

Se usaron cilindros con suelo no disturbado de pastura degradada, pastura de Brachiaria humidicola y bosque de la región de bosque de la costa de Bahia, Brasil, para evaluar la respuesta a N de P. phaseoloides (comercial), D. ovalifolium 350 y S. guianensis 136. Se observó la mayor respuesta a N en D. ovalifolium, y se observaron respuestas significativas a N en todas las combinaciones leguminosa-suelo, excepto S. guianensis en suelo de pastura de B. humidicola y bosque.

En otro ensayo se probó un rango de cepas de rizobios en las mismas 3 leguminosas en cilindros de suelo de pastura degradada. Se observaron respuestas significativas a la inoculación de P. phaseoloides con las cepas CIAT 3287, 3796 y 3649 pero no con 643, 2434 o 3648. En D. ovalifolium hubo una respuesta marcada a N pero no a la inoculación con las cepas probadas (CIAT 3418, 46, 2469 y 2335). En S. guianensis la cepa 71 dió una respuesta un poco mayor que las cepas 995, 2138 y 870, pero la respuesta a N fué mucho más grande. Aislamientos locales de D. ovalifolium no dieron respuestas positivas. Se concluye que se debe considerar la selección de cepas más efectivas para D. ovalifolium como prioridad, porque esta leguminosa será liberada dentro de poco tiempo.

X. EFECTIVIDAD DE CEPAS NATIVAS E INTRODUCIDAS DE RIZOBIOS CON LEGUMINOSAS FORRAJERAS TROPICALES EN UN SUELO DE PASTURA DEGRADADA EN PUCALLPA, PERU.

C. Reyes, S. Gonzales y M. Ara

Se sembraron dos ensayos de campo para evaluar 1) la efectividad de cepas nativas (respuesta a N) de 32 leguminosas forrajeras, y 2) la respuesta a la inoculación de tres leguminosas forrajeras (D. ovalifolium 350, P. phaseoloides y S. guianensis 184 "Pucallpa"). Se sembraron ambos ensayos por labranza mínima en pasturas degradadas. Sin embargo, se perdieron ambos ensayos debido a acarreo de las semillas por hormigas, y por una sequía atípica.

Se estableció un tercer ensayo de invernadero en cilindros con suelo no disturbado para evaluar las respuestas a inoculación de P. phaseoloides, S. guianensis 184, D. ovalifolium 350, C. macrocarpum 5065 y C. acutifolium 5277 con las cepas CIAT 2434, 643 y 3918 (P. phaseoloides); 4103, 71 y 860T (S. guianensis); 2469, 4099 y 3418 (D. ovalifolium) y 3101 (C. macrocarpum y C. acutifolium). Solamente hubo respuesta en peso seco de C. acutifolium a la fertilización con N; ninguna de las leguminosas respondió significativamente a la inoculación. Sin embargo, los niveles de P, Ca y K en el tejido de las plantas fueron muy bajos, y se concluyó que la falta de respuesta puede haber sido causado por los bajos niveles de nutrientes aplicados. Se está repitiendo el ensayo.

XI. USO DE CILINDROS CON SUELO NO DISTURBADO, Y ESTABLECIMIENTO POR LABRANZA MINIMA PARA LA EVALUACION DE CEPAS DE RIZOBIOS EN Arachis pintoii.

Rosemary Sylvester-Bradley, Dacier Mosquera y Jesús Méndez

Se describen detalles de un método usando cilindros con

suelo no disturbado y establecimiento por labranza mínima para evaluar la efectividad de la simbiosis de rizobios con Arachis pintoii, usando suelo de Carimagua en los Llanos Orientales de Colombia. Se observaron aumentos marcados de rendimiento de N debido a la inoculación con cepas aisladas de leguminosas de diferentes géneros, en el invernadero y en el campo, aunque hubo formación de nódulos abundantes de color interno blanco o rojo en los testigos sin inocular. Esto implica que A. pintoii noduló con las cepas nativas, pero la simbiosis no fué efectiva. Cepas recomendadas para la inoculación de A. hypogea (maní) no fueron muy efectivas en A. pintoii. Se concluye que se deben probar las combinaciones leguminosa-rizobio seleccionadas como efectivas en Carimagua en otros sitios para determinar si se adaptan a un rango amplio de suelos, o si existe especificidad para ciertos tipos de suelo.

XII. EL EFECTO DE LA INOCULACION SOBRE LA NODULACION Y RENDIMIENTO DE CARIOCA, UNA VARIEDAD DE FRIJOL RECIENTEMENTE LANZADA EN MBALA, ZAMBIA; NODULACION CON CEPAS NATIVAS Y RESPUESTAS A LA FERTILIZACION NITROGENADA DE UN RANGO DE GERMOPLASMA DE FRIJOL.

Martin N. Mbewe

Se montaron tres ensayos con Phaseolis vulgaris; en dos de estos se evaluó la capacidad de nodular de genotipos diferentes; el tercero fué del tipo "necesidad de seleccionar cepas" usando una mezcla de tres cepas y la variedad Carioca. No hubo diferencias significativas entre los genotipos del CIAT IBYAN 85 con respecto a su nodulación con las cepas nativas a los 28 días después de la siembra. Los genotipos se variaron en cuanto a su rendimiento. En el segundo ensayo, el BVNET, tampoco hubo diferencias entre genotipos en nodulación a los 28 días, pero a los 59 días se observaron diferencias marcadas entre los materiales en el tratamiento sin fertilizante. La

aplicación de urea aumentó significativamente el rendimiento. La correlación entre nodulación y rendimiento fué significativa ( $P < 0.01$ ), con rendimientos altos asociados con buena nodulación. En el tercer ensayo la variedad Carioca noduló mucho mejor en el tratamiento inoculado. Las diferencias entre tratamientos fueron más marcadas a los 28 días que a los 59. Los incrementos en rendimiento debido a la inoculación y fertilización no fueron significativos ( $P = 0.05$ ) probablemente debido a una inundación del lote tarde en la estación.

### XIII. SELECCION DE CEPAS DE Rhizobium phaseoli Y SU EVALUACION EN FINCAS DE AGRICULTORES EN COSTA RICA.

Lidieth Uribe y Germán Hernández C.

Se realizó un ensayo de evaluación de cepas en el invernadero utilizando cilindros con suelo no disturbado de San Carlos. Se compararon quince aislamientos locales y cuatro cepas recomendadas con dos testigos con y sin N (ambos sin inocular). No hubo respuestas significativas en rendimiento a la fertilización con N ni a la inoculación en este ensayo. En otro ensayo se evaluaron tres cepas pre-seleccionadas en jarras de Leonard en ensayos en tres fincas, usando la variedad comercial Negro Huasteco. En dos sitios (Las Brisas y San Carlos) hubo respuesta a la fertilización con N. En el tercer sitio (San Pedro) la fertilización con N causó menor rendimiento, posiblemente debido a la competencia por malezas. Las cepas CR436b y CIAT 166 causaron incrementos significativos en rendimiento en Las Brisas.

### XIV. AISLAMIENTO Y EVALUACION DE CEPAS DE Rhizobium phaseoli EN EL SALVADOR.

Paulina Pineda

Se efectuaron muestreos en zonas frijoleras en El Salvador

para determinar la efectividad de la simbiosis Rhizobium phaseoli - Phaseolus vulgaris. Se aislaron cincuenta cepas de rizobios de nódulos aparentemente efectivos, y se evaluaron en tres ensayos de invernadero. En el primer ensayo se evaluaron 12 aislamientos locales y 5 aislamientos de CIAT en suelo de Santa Ana. Un segundo grupo de 12 cepas con las cepas de CIAT se evaluaron en suelo de Cuscatlán. En estos 2 ensayos se usó la variedad Rojo de Seda. En el tercer ensayo se evaluaron 25 aislamientos locales y 3 cepas de CIAT en un suelo de Candelaria de la Frontera usando 2 variedades Rojo de Seda y RAB 204. Se identificaron cepas promisorias con base en número y peso seco de nódulos, contenido de N y peso seco de la parte aérea en plantas cosechadas a los 35 días después de la siembra. Se evaluaron estas cepas en tres ensayos de campo.

En el primer ensayo de campo inoculado con 6 cepas diferentes se observaron incrementos significativos en nodulación relativo a los testigos sin inocular con alto y bajo N. Los aumentos en rendimiento de grano no fueron significativos ( $P = 0.05$ ). En un ensayo el siguiente año, se observó un aumento en nodulación con 4 cepas, y la cepa más efectiva (P-22) dió un aumento significativo en rendimiento de grano con relación al testigo sin inocular. En el tercer ensayo se compararon 5 genotipos de frijol por su respuesta a inoculación y fertilización con N. Se observaron aumentos significativos en nodulación y rendimiento de grano debidos a la inoculación.

**XV. EVALUACION DE LA SIMBIOSIS ENTRE SEIS CEPAS DE Rhizobium phaseoli Y DOS VARIEDADES DE FRIJOL COMUN BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO, CHIMALTENANGO, GUATEMALA, 1986.**

Marcial Guzmán, María Inés Castellanos y Lucrecia Suchini

Se realizó un ensayo de invernadero usando macetas con

suelo de la región de Chimaltenango, Guatemala. Se evaluaron seis cepas y cinco niveles de N (0-160 kg N/ha) usando dos variedades de frijol (San Martín y Parramos). Hubo una interacción significativa cepa por variedad. En la variedad San Martín sobresalieron las cepas TAL 182 e ICAITI-0074. Se observó mayor rendimiento y nodulación en el tratamiento con 160 kg N/ha. En la variedad Parramos se observó mayor nodulación con las cepas CIAT 652 y MIRCEN 491, y mayor rendimiento de N con TAL 182, ICAITI 093 y CIAT 652, aunque no difirieron significativamente de los testigos sin inocular con y sin N.

#### XVI. EFECTO DEL FOSFORO Y LA INOCULACION SOBRE LA NODULACION Y RENDIMIENTO EN SOYA.

R. Valenzuela y R. Candía

Se realizaron dos ensayos en Santa Cruz de la Sierra, Bolivia, para evaluar los efectos de fósforo e inoculación en la nodulación y rendimiento de la soya. Se sembró la variedad IAC-8 en un diseño factorial en Saavedra, con tres tratamientos de inoculación con las cepas 5019, 587 y sin inocular, y tres niveles de fósforo 0, 60 y 120 kg/ha. Hubo un aumento significativo en rendimiento de 1980 kg/ha sin fósforo a 2470 kg/ha con 120 kg P/ha. La nodulación no fué afectada por el nivel de P, y no hubo efecto de la inoculación. En la zona de Okinawa-1 se aplicaron 0, 40 y 80 kg P/ha y dos tratamientos de inoculación: sin inocular e inoculado con la cepa 587. No hubo efectos significativos de la fertilización fosfatada. El número y peso de nódulos y el vigor de las plantas aumentó significativamente con la inoculación, pero en el rendimiento final la diferencia entre los tratamientos de inoculación no fué significativa. La falta de respuesta a inoculación posiblemente se debe a la presencia de cepas preestablecidas en el suelo.

XVII. EFECTO DE LA INOCULACION DE TRES VARIEDADES DE SOYA EN COMPARACION CON FERTILIZACION NITROGENADA.

A.M. Mostacedo, F. Navarro y R. Valenzuela

Se realizó un ensayo en la estación experimental Andrés Gómez de Abapó-Izozog, Bolivia, para evaluar los efectos de la inoculación y la aplicación de nitrógeno en tres variedades de soya: IAC-8, DOKO y Cristalina. Se aplicaron cuatro tratamientos de inoculación: sin inocular, inoculante comercial Nitrogen, Nitrobiol 587 y Nitrobiol 5019. A todos estos tratamientos se aplicaron 2 niveles de N : sin N y con 90 kg N/ha. En las parcelas sin inocular no se observaron nódulos. La aplicación de N inhibió la nodulación pero no afectó el número de vainas, peso de la semilla o rendimiento. El número y peso de nódulos aumentó significativamente con la inoculación, el efecto mayor fué de la cepa 587. De las tres variedades de soya, IAC-8 formó más nódulos. El vigor de las plantas no fué afectado significativamente por la inoculación, pero la cepa 5019 aumentó el número de vainas y el rendimiento en el tratamiento sin N. Los promedios del rendimiento fueron de 1173 y 1530 kg/ha en los tratamientos sin inocular e inoculados con la cepa 5019 respectivamente, y de 1374 y 1308 kg/ha en los tratamientos con 0 y 90 kg N/ha respectivamente, indicando un alto contenido de N mineral en el suelo.

XVIII. EVALUACION DE CEPAS DE Bradyrhizobium japonicum EN EL VALLE DE CESAR, COLOMBIA.

J. García, M. Ramírez y F. Munévar

Se realizaron una serie de experimentos en fincas en Cesar, Colombia. Se evaluó la nodulación de seis genotipos de soya no inoculados en tres etapas de crecimiento en tres ensayos. Se formaron pocos nódulos: el promedio del número de

nódulos por planta al inicio de la formación de las vainas fué de 2,7 y 0,3 y 0,4 en tres ensayos diferentes. En dos ensayos de inoculación se evaluó nodulación y rendimiento de tres variedades de soya con cuatro tratamientos: sin inocular, inoculado con la cepa ICA JO1, inoculado con ICA JO2 y fertilizado con 200 kg N/ha. El número de nódulos por planta aumentó significativamente con la inoculación, alcanzando 160 nódulos/planta. El número de vainas y rendimiento de grano también aumentaron significativamente como respuesta a la inoculación, con valores similares o mayores que el tratamiento fertilizado con N. El peso por semilla también fué mayor en los tratamientos inoculados.

En otro experimento, se evaluaron cinco cepas de rizobios y dos testigos sin inocular con y sin nitrógeno. Se usaron dos variedades de soya (Soyica P-31 y LSY-3). Cuatro de las cepas aumentaron la nodulación significativamente, ICA-JO1 dando el mayor aumento. Todas las cepas aumentaron el rendimiento, ICA-JO1 dió el mayor rendimiento (2493 kg/ha) comparable con el tratamiento fertilizado con N (2343 kg/ha).

En un tercer experimento, se evaluaron 4 niveles de N (de 0 a 200 kg/ha) y cuatro cepas de rizobios. El rendimiento en 3 de los tratamientos inoculados fué similar al efecto de la fertilización con 150-200 kg N/ha, y significativamente mayor al rendimiento con 0 y 100 kg N/ha, ICA-JO1 dió el mayor rendimiento. (ICA-JO1 = USDA 110).



## ENGLISH SUMMARIES OF RESEARCH PAPERS PRESENTED

## I. EVALUATION OF THE NEED TO INOCULATE, AND RESPONSES TO INOCULATION AND MOLYBDENUM APPLICATION IN SOILS FROM THE CENTRAL REGION OF PANAMA.

Esteban Arosemena, Rodolfo Morales and Rosemary Sylvester-Bradley.

In a field experiment with 30 ecotypes of tropical forage legumes from a range of genera (Stylosanthes (14), Centrosema (10), Pueraria (1), Desmodium (4) and Leucaena (1)), in an Ultisol at Calabacito, Panama, two treatments, low N and high N (both uninoculated) were applied. The majority of the ecotypes showed a response to N fertilization of more than two-fold, except for some ecotypes of S. guianensis and S. macrocephala. High N yields in the N fertilized treatment and high N responses were observed in Centrosema macrocarpum 5065, 5713, 5887 and 5062, Centrosema brasilianum 5234, Pueraria phaseoloides 9900, Desmodium heterophyllum 349, Stylosanthes capitata 10280 and Stylosanthes guianensis 1280, indicating that these legumes may show high yields when inoculated.

In a soil core experiment with three soils from Calabacito (Ultisol), Los Santos (Inceptisol) and El Coco, Penomene (Inceptisol), inoculation and molybdenum responses of Pueraria phaseoloides 9900 (kudzu) and Centrosema macrocarpum 5062 were studied. Marked increases in both dry matter yield and % protein were observed. In soil from Calabacito C. macrocarpum showed 2-3 fold responses in dry matter yield to both inoculation (strain CIAT 3101) and Mo application. Kudzu showed 2.1- and 1.4-fold inoculation responses (strain CIAT 2434) in the presence and absence of Mo respectively, and the response to Mo was 2.7-fold. In El Coco soil significant

responses to both Mo application and inoculation were also observed. In Los Santos soil the inoculation responses were smaller (1.3- and 1.2-fold for C. macrocarpum and kudzu respectively). It is concluded that both inoculation and Mo application are likely to be important for pasture legume establishment in some soils of central Panama, and that field trials should be done to confirm the results.

## II. FIELD EVALUATION OF YIELD AND RESPONSES TO RHIZOBIUM INOCULATION IN THREE TROPICAL FORAGE LEGUMES IN NEUTRAL SOIL FROM THE CHIAPAS COAST, MEXICO.

J.F. Aguirre Medina and M. Valdés.

A field experiment was carried out at "Jerico" field station on the Chiapas Coast, Mexico; the soil is a eutric fluvisol. Three treatments (uninoculated, inoculated and N-fertilized) were applied to three legumes (Centrosema brasilianum 5234, Centrosema pubescens 5189 and Pueraria phaseoloides 9900). Inoculants were strains CIAT 3101, 590 and 2434 for the 3 legumes respectively. P. phaseoloides and C. brasilianum showed significant responses to N and small but non-significant responses to inoculation in the first cut. At the second cut the responses were not significant, which may have been due in part to the dry season. C. pubescens showed relatively low yield and did not respond significantly to any treatment. Stem, leaves, petioles and litter were separated, but did not show marked differences between treatments, except for more litter in the N fertilizer treatment. It is concluded that in this relatively fertile soil inoculation responses are likely to be small. However, N yield responses to inoculation may occur during establishment (% N was not measured) and other strains may be more effective than the ones used. The less fertile soils of the Chiapas coast should be considered of higher priority for evaluations of the symbiosis.

III. EVALUATION OF THE SYMBIOSIS OF INTRODUCED AND NATIVE RHIZOBIA WITH FOUR TROPICAL FORAGE LEGUMES IN CORES OF UNDISTURBED SOIL FROM THE CHIAPAS COAST, MEXICO.

J.F. Aguirre Medina, M. Valdes and R. Sylvester-Bradley.

Soil cores were obtained from the "Jerico" site (see II) and 4 legumes (Centrosema brasilianum 5234, Pueraria phaseoloides 9900, C. macrocarpum 5065 and C. pubescens 438) were planted without inoculation and with various inoculated strains. C. brasilianum showed a significant increase in dry matter yield in response to N but none of the inoculated strains caused significant yield increases. Strain 3101 caused the greatest increase (25%). Large numbers of nodules were formed in the uninoculated control. P. phaseoloides showed a significant response (32%) to inoculation with strain CIAT 3918 (TAL 647) but not to N fertilization or inoculation with CIAT 2434, 3287, 643 or 3648; nodule number was not significantly affected by the treatments. C. macrocarpum and C. pubescens showed significant responses to N but not to inoculation with strain CIAT 3101. Root production and the root-shoot ratio was also affected in some of the treatments. It is concluded that strain 3918 should be tested on P. phaseoloides in field experiments, and that other strains should be tested on the Centrosema spp. However, the results show that the native strains in this soil are semi-effective on all these legumes.

IV. EFFECT OF INOCULATION ON Centrosema pubescens, Macroptilium atropurpureum AND Teramnus labialis IN UNDISTURBED CORES OF A RED FERRALITIC SOIL, MATANZAS, CUBA.

Miguel Tang.

C. pubescens, T. labialis and M. atropurpureum were sown

in undisturbed cores of a red ferralitic soil (pH 6.3) without inoculation, inoculated with three strains (CIAT 1670, IH-002 and IH-101) and fertilized with N. C. pubescens showed a significant increase in N yield in response to inoculation with strain CIAT 1670 (21%) and T. labialis with strain IH-002 (83%). M. atropurpureum showed slightly but not significantly lower N yields with inoculation and N fertilization than in the uninoculated control. It is concluded that C. pubescens and T. labialis may respond to inoculation in this soil, but that M. atropurpureum either nodulated effectively with native strains, or its growth was limited by some factor other than N.

V. EVALUATION OF THE NEED TO INOCULATE 28 FORAGE LEGUMES IN UNDISTURBED SOIL CORES FROM BAYAMO, CUBA.

Mirta López.

28 ecotypes of the genera Zornia (1), Centrosema (8), Stylosanthes (12), Desmodium (3), Leucaena (1), Teramnus (2), and Pueraria (1) were grown in undisturbed soil cores from Bayamo, Cuba (pH 6.1) with two treatments (low N and high N, both uninoculated). The largest N responses were observed in Stylosanthes ecotypes, especially S. capitata and S. macrocephala, some of which formed no nodules with the native strains. S. guianensis 136 and 184 formed more abundant nodules and showed smaller N responses. Centrosema ecotypes varied widely in N responses, C. macrocarpum 5887, C. acutifolium 5277 and C. pubescens 442 showing larger responses, whereas C. pubescens 438 and C. brasilianum 5234 showed large N yields but did not respond to N, indicating an effective symbiosis with native strains. Leucaena leucocephala also showed an effective symbiosis with native strains, whereas Teramnus labialis formed very few nodules. The results indicate that it may be especially important to select strains for inoculation of T. labialis, S. capitata, S. macrocephala

and some S. guianensis ecotypes in this soil type, and that inoculant strains for some Desmodium and Centrosema ecotypes may also be needed.

VI. FIELD EVALUATION OF THE INOCULATION RESPONSE OF Centrosema pubescens 438 DURING ESTABLISHMENT AT PINAR DEL RIO, CUBA.

Mirta Lopez.

A field experiment was set up to test the response of C. pubescens 438 to inoculation with strains CIAT 1670, 1780 and 49 and to N fertilization. Responses to N fertilization but not to inoculation were observed, possibly due to the very slow establishment caused by atypical climatic conditions (flooding followed by drought). It is concluded that this experiment should be repeated.

VII. PRACTICAL RESULTS ON THE INOCULATION OF SOYBEAN V9 FOR PRODUCTION OF FORAGE AND GRAIN AS ANIMAL FEED.

Mirta López and Nicolás Echevarría.

The performance of soybean V9 for forage production inoculated with strains ICA 8001 and three other introduced strains, and in two controls with and without N fertilization (both uninoculated) was studied in a field experiment. Strain ICA 8001 showed the greatest increase in N yield whereas strain Semia 5019 caused the greatest increase in %N. When cut at 75 days after planting, N yield with ICA 8001 was equivalent to that with 150 kg N/ha.

In large scale production plots (9 ha) uninoculated soybean was planted where soybean had been inoculated 2 years previously. Abundant nodulation and vigorous growth (46.9 t

fresh weight/ha) indicated that the inoculated strain had persisted. Grain yield was 1.1 t/ha.

VIII. SURVIVAL OF RHIZOBIA ON SEEDS USING INOCULANTS IN GAMMA-IRRADIATED PEAT FROM CUBA, COLOMBIA AND AUSTRALIA.

Mirta Lopez.

Peat-based inoculants were prepared with three rhizobium strains (CIAT 3101, ICA 4033 (Leucaena) and ICA 8001) in gamma-irradiated peat from Cuba, Colombia and Australia. Survival on seeds of the respective legume hosts inoculated with gum arabic and rock phosphate or lime pellets was evaluated over a 14 day period. The greatest survival was observed with Australian peat with all three strains; Cuban peat was intermediate and the Colombian peat showed highest mortality. Mean log death across strains during 14 days seed storage was only 1.8 for Australian peat, whereas for Cuban and Colombian peat it was 3.7 and 4.3 logs respectively. The reason for these differences is not clear, and is only apparent when survival on seeds is evaluated, whereas survival in the inoculant packet is adequate with all three peats.

IX. EVALUATION OF THE LEGUME-RHIZOBIUM SYMBIOSIS IN DEGRADED PASTURE AND FOREST SOILS, BAHIA, BRAZIL, USING Pueraria phaseoloides, Desmodium ovalifolium AND Stylosanthes guianensis.

Reinaldo Bertola Cantarutti and Stela Dalva Vieira Midlej Silva.

Undisturbed cores of soils from degraded pasture, Brachiaria humidicola pasture and forest in the coastal rainforest region of Bahia, Brazil were used to evaluate the N

response of P. phaseoloides (commercial), D. ovalifolium 350 and S. guianensis 136. D. ovalifolium showed the largest N responses and significant N responses were observed in all soil-legume combinations except for S. guianensis in B. humidicola pasture and forest soils.

In a further experiment a range of rhizobium strains were tested on the same three legumes in cores of degraded pasture soil. In P. phaseoloides significant responses to inoculation were observed with strains CIAT 3287, 3796 and 3649 but not with 643, 2434 or 3648. In D. ovalifolium a marked response to N, but no response with the strains tested (CIAT 3418, 46, 2469, and 2335) was observed. In S. guianensis strain 71 gave a slightly better response than 995, 2138 and 870 but a much larger response to N was observed. Local isolates of strains from D. ovalifolium did not give positive responses. It is concluded that priority should be given to selecting better strains for D. ovalifolium, since this is shortly to be released as a commercial cultivar.

X. EFFECTIVENESS OF NATIVE AND INTRODUCED RHIZOBIUM STRAINS ON TROPICAL FORAGE LEGUMES IN A DEGRADED PASTURE SOIL, PUCALLPA, PERU.

C. Reyes, S. Gonzales and M. Ara.

Two field experiments were planted to evaluate (1) the effectiveness of native strains (N response) of 32 forage legumes, and (2) the inoculation response of three forage legumes (D. ovalifolium 350, P. phaseoloides and S. guianensis 184 "Pucallpa"). Both experiments were planted with minimum tillage in degraded pastures. However, both experiments were lost due to ants taking the seeds and an unexpected drought.

A third experiment was set up in undisturbed soil cores in the greenhouse to test inoculation responses of P. phaseoloides, S. guianensis 184, D. ovalifolium 350, C. macrocarpum 5065 and C. acutifolium 5277 with CIAT strains 2434, 643 and 3918 (P. phaseoloides); 4103, 71 and 860T (S. guianensis); 2469, 4099 and 3418 (D. ovalifolium), and 3101 (C. macrocarpum and C. acutifolium). Only C. acutifolium showed significant dry weight increases in response to N fertilization and none of the legumes responded significantly to inoculation. However, levels of P, Ca and K in plant tissue were low and it was concluded that the lack of response may have been due to the low nutrient levels applied. The experiment is being repeated.

XI. USE OF UNDISTURBED SOIL CORES AND REDUCED TILLAGE  
ESTABLISHMENT FOR EVALUATION OF RHIZOBIUM INOCULATION  
RESPONSES IN Arachis pintoii.

R. Sylvester-Bradley, D. Mosquera and J.E. Mendez.

Details of a method using undisturbed soil cores and minimum tillage establishment to evaluate the effectiveness of the symbiosis of rhizobia with Arachis pintoii are described, using soil from Carimagua, in the Llanos Orientales of Colombia. Marked increases in N yield of this legume were observed due to inoculation with rhizobium strains isolated from a range of genera, in both the greenhouse and the field, even though abundant white or red nodules were formed in the uninoculated treatments. This indicates that A. pintoii nodulates with native strains, but the symbiosis was ineffective. Strains recommended for inoculation of A. hypogaea (peanut) were not especially effective on A. pintoii. It is concluded that legume-rhizobium combinations selected for effectiveness in Carimagua should be tested at other sites to determine whether the selected combinations are suitable for a



wide range of soils, or whether effectiveness is specific to certain soil types.

XII. EFFECT OF INOCULATION ON NODULATION AND YIELD OF CARIOCA, A RECENTLY RELEASED BEAN VARIETY IN MBALA, ZAMBIA; NODULATION WITH THE NATIVE RHIZOBIUM POPULATION AND N FERTILIZER RESPONSE OF A RANGE OF BEAN GERMPLASM.

Martin N. Mbewe

Three experiments on common beans (Phaseolus vulgaris L.) were performed, two of which dealt with nodulation evaluations of a wide range of bean germplasm, and the other was a "need to select strains" trial using a mixture of three Rhizobium phaseoli strains. In one experiment on nodulation with native strains (a CIAT IBYAN trial), no significant differences between genotypes in nodule number per plant at 28 days after planting were observed, but genotypes differed significantly in yield. In the second experiment, a Bean Variety Nodule Evaluation Trial, there were again no significant differences between varieties in nodule number 28 days after planting, but there were more nodules in the plots without nitrogen. At 59 days after planting differences between varieties in nodule number per plant were observed in plots without nitrogen. There were significant differences in yield between varieties in both unfertilized and fertilized plots. There was a significant correlation between yield and nodule number score ( $R = - 0.59$ ,  $P < 0.01$ ) with higher yield being associated with good nodulation. In the third trial the variety Carioca showed much greater nodulation in the inoculated treatment. The differences between treatments were greater at 28 than at 59 days. The yield increases due to inoculation were not significant ( $P = 0.05$ ) probably due to flooding of the plots late in the season.

XIII. SELECTION OF Rhizobium phaseoli STRAINS AND THEIR EVALUATION IN ON-FARM TRIALS IN COSTA RICA.

Lidieth Uribe L. and Germán Hernandez C.

A strain screening trial was conducted in the greenhouse using undisturbed soil cores from San Carlos. Fifteen local isolates and four recommended strains were compared to an uninoculated (native strain) control and an N fertilized treatment. There was no response to N fertilizer in this trial and none of the inoculation treatments caused a significant plant growth response. Three strains, pre-selected in Leonard jar tests, were evaluated in on-farm trials. The commercial variety, Negro Huasteco, was used in these trials. At two of the sites (Las Brisas and San Carlos) there was a response to N fertilizer. At the third site (San Pedro) N fertilizer caused a decrease in bean yield, possibly due to increased weed competition. Significant responses in yield due to inoculation were observed at Las Brisas with the strains CR 436b and CIAT 166.

XIV. ISOLATION AND EVALUATION OF Rhizobium phaseoli STRAINS IN EL SALVADOR.

Paulina Pineda.

Surveys in important bean growing areas of El Salvador were conducted to evaluate the nitrogen-fixing symbiosis between Rhizobium phaseoli and Phaseolus vulgaris. Fifty rhizobium strains were isolated from effective-appearing nodules and then evaluated in greenhouse trials. In one trial 12 local isolates plus 5 CIAT isolates were evaluated in soil from Santa Ana. A second group of 12 strains plus the CIAT checks were compared in soil from Cuscatlán. The bean variety Rojo de Seda was used in both these trials. In the third trial

25 local isolates and 3 CIAT strains were evaluated in a soil from Candelaria de la Frontera, using two bean varieties, Rojo de Seda and RAB 204. Promising strains were identified on the basis of nodule number and weight, shoot weight and N content of plants harvested 35 days after planting. These strains were tested in three field trials.

In the first field trial inoculation with 6 different strains resulted in significant increases in nodulation when compared to uninoculated and N-fertilized controls. The increases in grain yield were not significant ( $P = 0.05$ ) however. In a trial the following year, inoculation with 4 different strains increased nodulation and the most effective strain (P-22) gave a significant ( $P < 0.05$ ) increase in grain yield as compared to the uninoculated control. In the third trial, 5 bean genotypes were compared for their responses to inoculation and N-fertilizer application. Inoculation with a mixture of 3 strains resulted in increased nodulation and grain yields. Yield was also increased by N fertilizer applications.

**XV EVALUATION OF THE SYMBIOSIS BETWEEN SIX Rhizobium phaseoli STRAINS AND TWO BEAN VARIETIES UNDER GLASSHOUSE CONDITIONS IN CHIMALTENANGO, GUATEMALA.**

M. Guzmán, M.I. Castellanos, and L. Suchini.

A strain evaluation experiment was conducted in the glasshouse in Chimaltenango, Guatemala using pots of soil from that region. Six strains were compared to five levels of N fertilizer application (0 to 160 kg N/ha) using the two bean varieties, San Martin and Parramos. An interaction between strains and varieties was observed. In San Martin strains TAL 182 and ICAITI 0074 stimulated greater nodulation, plant dry weight and total nitrogen as compared to the non-N-fertilized treatment. The high N (160 kg N/ha) treatment gave highest

values for these characters, including nodulation. With the variety Parramos, nodulation was greatest when inoculated with CIAT 652 and MIRCEN 491. Total plant N was greatest with strains TAL 182, ICAITI 093 and CIAT 652, although not significantly different ( $P = 0.01$ ) from the noninoculated and N-fertilized treatments.

#### XVI. THE EFFECT OF PHOSPHORUS AND INOCULATION ON NODULATION AND YIELD OF SOYBEAN.

R. Valenzuela and R. Candia.

Two experiments were conducted in Santa Cruz de la Sierra, Bolivia, to evaluate the effects of phosphorus fertilizer and inoculation on soybean nodulation and yield. The variety IAC-8 was used in a factorial experiment in Saavedra; there were three inoculation treatments: strain 5019, strain 587 and not inoculated; and three phosphorus treatments: 0, 60 and 120 kg/ha. There was a significant yield response to P fertilizer, increasing from 1980 kg/ha in the unfertilized treatment to 2470 kg/ha in the 120 kg P/ha treatment. Nodulation was not affected by P fertilizer applications, nor was there any effect as a result of inoculation. In the Okinawa-1 zone the three levels of P used were, 0, 40 and 80 kg/ha and only two inoculation treatments, 0 and strain 587, were compared. In this trial the increases in yield due to P fertilizer were not significant. Inoculation increased nodule number, weight and plant vigor, but not final yield. The lack of response to inoculation may have been due to strains previously established in the soil.

#### XVII. THE EFFECTS OF INOCULATION AND NITROGEN FERTILIZER APPLICATION ON THREE SOYBEAN VARIETIES.

A.M. Mostacedo, F. Navarro y R. Valenzuela

A trial was conducted in the experimental station Andres Gómez de Abapó-Izozog, Bolivia to evaluate the effects of inoculation and nitrogen fertilizer application on three soybean varieties, IAC-8, DOKO, and Cristalina. There were four inoculation treatments: uninoculated, commercial Nitrogen, Nitrobiol 587, and Nitrobiol 5019. Two N levels were applied to all of these treatments: unfertilized and 90 kg N/ha. There were no nodules in the uninoculated plots. Nitrogen fertilizer application inhibited nodulation but had no effect on pod number, seed weight or yield. Inoculation significantly increased nodule number and weight, the largest effect being with strain Nitrobiol 587. Of the three soybean varieties, IAC-8 formed most nodules. Plant vigor was not increased significantly by inoculation, but pod number and yield were increased by strain Nitrobiol 5019 in the unfertilized treatments. Mean yield in the uninoculated treatment was 1173 kg/ha and that the Nitrobiol 5019 treatment was 1530 kg/ha, and 1374 and 1308 kg/ha in the treatments with 0 and 90 kg N/ha respectively, indicating high mineral N levels in the soil.

#### XVIII. EVALUATION OF Bradyrhizobium japonicum STRAINS IN THE VALLE DEL CESAR, COLOMBIA.

J. García, M. Ramirez y F. Munévar

A number of trials were conducted on farms in Cesar, Colombia. Nodulation of six non-inoculated soybean genotypes was evaluated at three plant growth stages in three experiments. Few nodules were formed; mean nodule number per plant at early pod fill in one trial was 2.7, in another 0.3, and in the third 0.4. In two inoculation experiments three soybean varieties were evaluated for nodulation and yield with the following treatments: noninoculated, inoculated with strain ICA-J01, inoculated with strain ICA-J02, and fertilized

with 200 kg of N/ha. Inoculation significantly increased nodule number with values reaching 160 nodules/plant. Pod number and grain yield were also significantly increased as a result of inoculation, with values similar to, or greater than, the nitrogen fertilized treatment. Seed weight was also greatest in the inoculated treatments.

In a subsequent experiment, five rhizobium strains were compared to the non-inoculated and N-fertilized controls. Two soybean genotypes (Soyica P-31 and LSY-3) were used in this trial. Four of the strains significantly increased nodulation, with ICA-J01 causing the greatest increase. All inoculated treatments gave higher yields. Strain ICA-J01 again gave the highest yield (2493 kg/ha) comparable to the N-fertilized treatment (2343 kg/ha).

A range of fertilizer treatments (from 0 to 200 kg N/ha) were compared to four rhizobium strains in a final experiment. Grain yields of three of the inoculated treatments were similar to 150-200 kg N/ha and significantly greater than the treatments with 0 to 100 kg of N, ICA-J01 again gave the highest yield (ICA-J01 = USDA 110).

**RESUMENES DE LOS GRUPOS DE TRABAJO**

**WORKING GROUP SUMMARIES**

GRUPO DE TRABAJO I: TECNICAS PARA LA EVALUACION  
AGRONOMICA DE LA SIMBIOSIS LEGUMINOSA-RIZOBIO

SUB-GRUPO PASTOS

Relatores: Reinaldo Bertola Cantarutti, Rosemary Sylvester-Bradley y Esteban Arosemena.

Este grupo de trabajo tuvo por objetivo una revisión de los métodos usados por los diferentes equipos, la identificación de problemas y discusión de posibles soluciones.

Como el tema fué muy amplio hubo una intensa discusión dirigida a las dificultades y lo que se hizo para superarlas, mientras que se trató de apuntar adecuaciones o cambios en alguna metodología.

Las principales dificultades encontradas fueron:

1. Falta de invernadero
2. Falta de equipamentos necesarios para labranza mínima de campo.
3. Dificultad para enterrar los cilindros en el suelo principalmente en suelos arcillosos.
4. Ataque de plagas (hormigas).
5. Control de malezas bajo condiciones de labranza mínima.
6. Deficiencias nutricionales indefinidas.
7. Limitaciones climáticas.



Frente a estas dificultades se lograron algunas soluciones en cada lugar. Se puede citar como ejemplos:

1. Para superar la falta de invernadero se hizo recuperación o se construyó utilizando materiales sencillos tales como madera, teja plástica y malla. Con estas improvisaciones se logró obtener condiciones para llevar a cabo los experimentos en cilindros de suelo.
2. Para evitar el daño de los cilindros al meterlos en el suelo se hicieron algunos inventos para protegerlos. En uno que ha logrado buen resultado se utilizó una camisa de piston de tractor con el diámetro interno próximo al diámetro externo del cilindro (en el caso 102 mm). Para ajustar los diámetros, se desgastó el cilindro de hierro en 2 mm en un torno mecánico y se afiló su extremidad de penetración en el suelo. De esta forma el cilindro no se daña por la presión del suelo y por los golpes que se le dá. Otro arreglo sencillo que resulta con buen resultado es el uso de una tabla por arriba del cilindro de PVC para que el impacto de los golpes sea uniformemente distribuido por las paredes del cilindro.
3. Para reemplazar el escardillo en el preparado de la labranza mínima se utilizó un motocultivador que preparó una franja de un metro de ancho; así se sembraron dos hileras de plantas próximas a los bordes de la franja donde la gramínea tiene mayor competencia por el nitrógeno mineral.

En base a la experiencia vivida por los miembros de los equipos surgieron recomendaciones ó sugerencias, las cuales detallamos a continuación:

1. Con respecto a la fertilización se sugiere utilizar fertilizaciones completas (macro y micronutrientes), excepto en los casos que haya conclusiones muy seguras de los requerimientos nutricionales en suelos locales. El uso de los micronutrientes es aún más importante porque en general los métodos analíticos de estos nutrimentos no reflejan las cantidades disponibles para las plantas.

Para los experimentos en cilindros se recomienda aumentar los niveles de nitrógeno y que las aplicaciones sean fraccionadas semanalmente o cada dos semanas en cantidades crecientes. Se recomienda que los niveles sean definidos en base a las producciones de materia seca que se espera obtener. Como las producciones varían de 5 a 10 g/cilindro y la concentración del N está alrededor de 3%, estos niveles pueden variar del 150 al 300 mg de N por cilindro en total. Para los experimentos en campo se recomienda que las fechas exactas de las aplicaciones de N sean flexibles según las condiciones ambientales (humedad del suelo principalmente) en el día de la aplicación. Si no hay condiciones favorables se debe retardar la aplicación y acercar las aplicaciones subsecuentes para ajustar a la cantidad total de N requerido.

Para obtener niveles altos de N en el campo se debe considerar la intensidad de la competencia por las gramíneas. Cuanto mayor les parezca la competencia se debe aumentar los niveles de N para que no se disminuya la respuesta al N.

2. Se sugiere en casos que haya dificultades para medir la humedad y capacidad de campo del suelo, se puede usar la humedad del suelo al sacar el cilindro. Para eso es importante que la humedad del suelo sea adecuada (observar

si no hay señales de sequía en las plantas al campo) y pesar los cilindros inmediatamente después de sacarlos.

3. No se ha encontrado efecto significativo de los bloques establecidos en función de peso de los cilindros. Parece que aún cuando haya alta variabilidad en los pesos de los cilindros, se puede usar el diseño completamente al azar. Por tanto es importante ajustar la humedad en base a los pesos individuales de los cilindros.
4. En las condiciones de invernadero, como alternativa al inoculante en turba se puede hacer la inoculación al suelo junto a la semilla con una suspensión de células, es decir: el propio caldo de crecimiento. Es importante que se haga el conteo de células que se está adicionando en el volumen aplicado.
5. Para los experimentos en campo (con leguminosas forrajeras solamente) se recomienda un ajuste en las fechas de evaluación de nodulación debido a las dificultades de llevar a cabo el trabajo en plantas muy desarrolladas. Se recomienda dos fechas: Una temprana a las 6 semanas de la germinación; una tardía al inicio de la floración o las 12 semanas, siendo que se debe considerar la que ocurra primero.
6. En los experimentos de campo de las Etapas 1 y 2 se recomienda el control de malezas, por lo menos al largo del surco del plantío. El uso de herbicidas se debe hacer solo cuando haya información segura que no haga daño a la población de rizobios o inoculación.

Se concluye que en general los equipos utilizaron los métodos propuestos en el Manual de Métodos, principalmente en

el que se refiere a la evaluación de cepas en condiciones de bajo N.

Lo más importante que se puede concluir es que los equipos buscaron diferentes soluciones para obtener condiciones mínimas de trabajo. Esto refleja cuánto están motivados los equipos.

COMENTARIOS GRUPO DE TRABAJO I  
(Rosemary S. Bradley)

Sub-Grupo Pastos

- 1) Se olvidó mencionar el método desarrollado por el grupo peruano para introducir los cilindros de PVC al suelo. Ellos hicieron un instrumento especial de un tubo metálico pesado de unos 150 cm de largo con un disco metálico de unos 20 cm de ancho fijado en una extremidad. Se permite este instrumento caer encima del tubo de PVC para que su peso se distribuya uniformemente sobre el tubo en una dirección vertical. Así se evita que los tubos entren al suelo atravesados para que no se dañen.
- 2) Se ha escrito una versión preliminar de un suplemento al Manual de Métodos sobre el análisis estadístico de datos cualitativos (no paramétricos) de nodulación (el borrador está disponible ahora para quienes lo soliciten).
- 3) Hemos hecho unos ensayos de invernadero con un sistema de fertilización de nitrógeno, incrementando las dosis aplicadas durante el ensayo, y acortando el período de crecimiento.

Por ejemplo 20, 40, 60 y 80 kg N/ha a los 10, 20, 30 y 40 días después de la siembra respectivamente, con corte a los 50 días para plantas de crecimiento rápido (Centrosema y Pueraria). Para plantas de crecimiento más lento (Stylosanthes y Desmodium), se hacen las mismas aplicaciones pero con intervalos mayores (por ejemplo cada 12 días con corte a los 60 días). El tiempo necesario para un desarrollo adecuado de las plantas, sin llegar a un crecimiento excesivo y correr el riesgo de inducir

deficiencias nutricionales, varia con el clima y el suelo. Los tiempos sugeridos en el Manual (8-12 semanas) probablemente son excesivos para la mayoría de sitios. Como criterio se sugiere que no debe haber más que 10g de peso seco/cilindro en ninguno de los tratamientos.

En el caso de acortar el tiempo de crecimiento, se debe hacer la segunda aplicación de K, Mg, y S a las 3 o 4 semanas después de la siembra. El P se puede aplicar todo a la siembra en vez de fraccionarlo.

- 4) En el caso de ensayos de invernadero con relativamente pocos tratamientos donde se pretende usar cilindros con suelo no disturbado, puede ser preferible utilizar tubos PVC con un diámetro de 6 pulgadas en lugar de 4 pulgadas, lo que permite un mejor desarrollo de las plantas. Se puede reducir el largo a 20 cm.

GRUPO DE TRABAJO I: TECNICAS PARA EVALUACION  
AGRONOMICA DE LA SIMBIOSIS LEGUMINOSA-RIZOBIO

SUB-GRUPO FRIJOL Y SOYA

Relatores: Joann Roskoski, Paulina Pineda y Judy Kipe-Nolt

Este subgrupo fué compuesto de investigadores de frijol y soya de siete paises. Discutimos el uso y la utilidad de los métodos del manual:

I. Métodos relacionados con los ensayos de invernadero.

Cinco de los siete paises han corrido ensayos de invernadero (CIAT, C, G, ES, CR.)\*. De este grupo dos han usado suelos pobres en nitrógeno, 1 suelo no perturbado y 2 han tratado de disminuir N en sus suelos con el uso del suelo donde antes había cultivo de una gramínea. Solamente uno de los cinco han usado el método de cilindros, el resto ha usado macetas. El acuerdo del grupo fué que en suelos arcillosos sería difícil sacar cilindros. El investigador que usó los cilindros perdió 5% durante el proceso de obtenerlos. Los diseños experimentales usados fueron completamente randomizado o bloques al azar. En un caso hubo efecto de la posición de las macetas en el invernadero; en cuyo caso suponemos que un diseño con bloques hubiera sido mejor.

- \* ES = EL SALVADOR
- G = GUATEMALA
- C = ICA, COLOMBIA
- CR = COSTA RICA
- B = BOLIVIA
- Z = ZAMBIA
- CIAT = CIAT, COLOMBIA

La mayoría de investigadores no ha calculado la capacidad de campo en sus suelos y ha aplicado riego cuando parecía ser necesario. Esto probablemente aumentó mucho el error experimental de los ensayos. La aplicación de fertilizantes se efectuó en base a los análisis de suelos y las recomendaciones normalmente hechas para el campo. La mayoría no tomó en cuenta la diferencia en volumen de suelo/planta en macetas, comparado con el campo, como se recomienda en el Manual. Se aplicaron entre 0 y 160 kg/ha de N. Muchos aplicamos P, pero no todos. No se observó toxicidad y en algunos ensayos las plantas fueron cloróticas en las macetas que no recibieron ningún tratamiento con N.

Los métodos de aplicación del inoculante fueron dos: 1) aplicación en forma líquida con rangos alrededor  $5 \times 10^8$  células por planta, ó 2) aplicación en forma de turba con una dosis menor, alrededor  $3 \times 10^6$  células por planta. Todos estuvieron de acuerdo que la cantidad de inóculo y los métodos de inoculación deben ser estandarizados.

## II. Métodos relacionados a los estudios de campo.

### Preparación del terreno

Dos investigadores escogieron sitios con suelos bajo en nitrógeno (Z, ES), tres trataron de bajar el nivel del nitrógeno en sus suelos con cultivo de gramíneas, antes de efectuar los ensayos (B, CR, G) y uno escogió un sitio que estuvo previamente sembrado con gramíneas y también aplicó aserrín para bajar más el nitrógeno del suelo (CIAT). La mayoría (C, G, B, Z, ES, CIAT) araron los campos antes de la siembra, pero también un ensayo se corrió con labranza mínima (CR).



Las sugerencias para escoger mejores sitios experimentales en el futuro fueron:

- Sitios con menos N en el suelo (C, B, ES)
- Sitios con menos rizobios nativos (Z,C)
- Sitio con riego disponible (C)
- Sitio fuera de la estación experimental (B)
- Correr el ensayo en más sitios (CR)

#### Fertilizante nitrogenado

La aplicación de nitrógeno a las parcelas +N se efectuó en dosis de 35 kg de N/ha (Z), 100 kg N/ha (CR, B), de 120 kg de N/ha (C, G, CIAT, ES, Z). La aplicación total se dividió en dos hasta seis veces y todos obtuvieron una respuesta al tratamiento con nitrógeno.

#### Diseños Experimentales

El principal diseño experimental usado fué parcelas divididas (B, Z, ES, CIAT, G, C) con tratamientos de N o inoculación como las parcelas principales, y genotipos de frijol como sub parcelas. También se usaron bloques al azar (CR, Z).

#### Ensayos perdidos

En general no fallaron muchos ensayos (menos de la mitad). Los que fallaron se debió en su mayoría o bien a exceso (G,Z) o a falta de agua (C, B, CR). Se sugirió que en el futuro sería conveniente efectuar como mínimo uno de los ensayos donde exista la posibilidad de riego. Por lo regular se aplicaron fertilizantes apropiados y en la cantidad necesaria para asegurar un buen rendimiento. Hubo problemas de plagas (CIAT, CR, ES, Z) y se aplicaron pesticidas para controlarlos (CIAT, ES, CR).

### Inoculación

La aplicación de inoculante fué en turba pero la dosis fué variable. Algunos usaron la metodología de peletización y otros aplicaron el inoculante al suelo. CR y G hicieron control de calidad del inoculante, los demás no lo hicieron por falta de recursos. Se escogieron las cepas para los ensayos de campo basados en el comportamiento observado en ensayos previos del invernadero (CR, ES, G). Otros utilizaron cepas recomendadas por NIFTAL, CIAT o MIRCEN. Parte del grupo opinó que se debía usar una cepa standard por ensayo. Aquellos en contra de esta idea dieron como razón que una sola cepa no puede funcionar bien en todos los sitios (con base en información específica? Debe ser posible recomendar cepas por lo menos para tipos de suelo).

### Evaluaciones

Los tiempos de observación de nodulación variaron mucho de país a país, pero todos hicieron al menos dos cosechas de nódulos y algunos tres cosechas. Se sugirió que los investigadores deberían no solo indicar el número de días después de la siembra al momento de tomar la nodulación sino también la etapa del desarrollo de la planta. Por ejemplo V<sup>3</sup> = una etapa vegetativa temprana. Todos estuvieron de acuerdo y para aquellos que no saben como describir estas etapas, CIAT debe suministrarles esta información. Los datos de nodulación evaluados fueron: Número de nódulos (CIAT, ES, C, B, Z); Peso de nódulos (ES, B, C, G, CR) y Color de nódulos (CIAT, B).

La fecha de cosecha varía entre 70-90 días para frijol y alrededor de 110 días para soya (C). Para la mitad de los ensayos se hicieron análisis de N de las plantas en los ensayos de invernadero (G, CR, CIAT, ES). Los otros indicaron que sus laboratorios no tienen capacidad para efectuar éste tipo de

análisis (Z, B). Ninguno analizó el N de las plantas en los ensayos de campo. Todos tenían información sobre los suelos y clima, la cual se encuentra en los informes.

### III. Otros temas de discusión

Una inquietud común fué la variabilidad en sus análisis de nitrógeno. Se hizo la sugerencia que CIAT mandara a los investigadores de la red algún estandard de tejido vegetal con contenido conocido de nitrógeno. Usando este estandard un investigador puede saber si su material es variable o si sus problemas están en el método del análisis.

Otro punto importante mencionado fué con respecto al análisis de nitrógeno. Cuando se aplica una cantidad alta de nitrógeno, lo cual es común en los testigos +N, es necesario modificar el método Kjeldahl para poder incluir  $\text{NO}_3$  en el análisis. La razón es que cuando la planta absorbe mucho nitrógeno mineral puede tener una proporción significativa de su nitrógeno en forma de nitrato y el método estandard Kjeldahl no incluye nitrato. La modificación es relativamente sencilla y consiste en incubar antes de la etapa de digestión con ácido salicílico.

Otro punto importante se refirió a la manera de calcular la cantidad de nitrógeno necesaria para aplicar a las macetas de +N con el fin de inhibir la nodulación. Un método fácil es estimar el tamaño máximo esperado de las plantas, por ejemplo en frijol es más o menos 20 g de peso seco por 2 plantas. Si suponemos un porcentaje de nitrógeno de 3% estos 20 gramos tienen 600 mg de nitrógeno. Si se aplica 3 veces más nitrógeno de lo que se cosecha en la maceta o sea  $3 \times 600$  mg, se necesita aplicar 1800 mg por maceta. Para asegurar que este nitrógeno no se pierde con el riego es bueno aplicar los 1800 mg en dosis divididas.

Otro tema con respecto a nitrógeno fué la necesidad de disminuir el contenido de nitrógeno en el suelo particularmente en ensayos de invernaderos. Se sugirió que CIAT prueba "N serve" para ver si este producto disminuye la disponibilidad de N en el suelo.

En relación al mantenimiento de la humedad en las macetas, todos estuvieron de acuerdo en su importancia. Para un buen crecimiento de plantas se necesita aplicar agua dos veces por día y pesar las macetas cada semana. Se sugirió usar macetas más grandes que conserven el agua por más tiempo.

Por último se discutió la diferencia entre investigación básica, aplicada y extensión y si era posible hacer estudios básicos dentro de un esquema de investigación aplicada, ya que no se debe olvidar al pequeño agricultor quien es el usuario final de la simbiosis. En el caso de ensayos para determinar el rendimiento máximo posible sin deficiencia de nitrógeno, se necesita aplicar dosis de nitrógeno a los controles con nitrógeno mucho más altas que los que el agricultor puede utilizar. Pero al fin la investigación es para establecer el potencial de la simbiosis y después adaptarlo a las prácticas del mundo real. Sin embargo, se pueden incluir algunas de las prácticas del pequeño agricultor desde el principio. Por ejemplo utilizar suelo no perturbado en ensayos de invernadero, si se conoce que el agricultor utiliza labranza mínima.

GRUPO DE TRABAJO II: MANTENIMIENTO Y  
CARACTERIZACION DE RIZOBIOS

Relatores: Maria Ines Castellanos, Mirta López, Lidieth Uribe  
Elias Ramirez y María Valdés.

Conclusiones

Se describieron los métodos de trabajo empleados con ese propósito de cada equipo de los participantes en la red. Ninguno de los mismos manifestaron tener problemas ni de mantenimiento ni de caracterización de los rizobios. De hecho son solo 2 los equipos que están trabajando con cepas aisladas en suelos de sus países respectivos, Cuba y Brasil, los primeros por el interés de conocer sus cepas y los segundos por no haber obtenido respuesta con las cepas recomendadas y enviadas por CIAT.

Se enfatizó en la importancia de un adecuado manejo del cepario para minimizar la alteración de las propiedades simbióticas de las bacterias. Se recomendó ampliamente el uso de esferas de porcelana para preservar los rizobios, pues es un método sencillo, seguro y al alcance de cualquier laboratorio por modesto que sea. Para los que trabajan con *R. phaseoli* se aconseja verificar la viabilidad de las cepas después del liofilizado. Si se realizan aislamientos locales y no se poseen medios para conservarlos adecuadamente, pueden enviar únicamente las mejores al cepario de CIAT.

Para los miembros de la red que trabajan con leguminosas forrajeras, se discutió la conveniencia del uso de cepas de referencia tanto para trabajo de laboratorio como para los ensayos de inoculación a plantas. Se acordó que el CIAT, previo estudio de su cepario y de su experiencia con las cepas

recomendadas, notificará a todos los colaboradores cual es la cepa que se utilizará como referencia para cada caso o leguminosa.

Se deben resembrar a partir del cultivo bacteriano original diferentes tubos para el trabajo de rutina. Si la cepa se recibe en ampollas, se deberá siempre solicitar suficientes para tener algunas en reserva.

En relación a los componentes del medio de agar-levadura-manitol, como casi en todos los países que colaboran en la red, son productos de importación y puede ser difícil su obtención, algunas personas comunicaron su exitosa experiencia utilizando otras fuentes carbonadas. Para sustituir el manitol, para cepas de crecimiento rápido puede utilizarse sacarosa y para cepas de crecimiento lento se puede sustituir el manitol por glicerol. Para reactivos susceptibles a la hidratación, por ejemplo extracto de levadura, se trasvasan a recipientes más pequeños, y se guardan en un ambiente seco. Se sugirió que una misma persona tenga la responsabilidad del cepario.

## COMENTARIOS GRUPO DE TRABAJO II

- 1) Este reporte es una combinación de 2 reportes que recibimos. Favor avisarnos si no representa lo que se discutió en algún aspecto importante.
  
- 2) Al abrir ampollas de cepas liofilizadas, no se debe suponer que la cepa está pura. Se sugiere estriar para comprobar su pureza, y (para Bradyrhizobium) mantener en cajas selladas con parafilm con LMA pH 5.5 bajo refrigeración por un máximo de 3 meses (en pH 6.8 las cepas mueren bajo refrigeración), sub-cultivando de 3 colonias a tubos para uso rutinario. Se sugiere abrir una ampolla nueva una vez por año como mínimo.

Si alguna cepa demuestra un comportamiento simbiótico variable, no se debe suponer que es genéticamente inestable. Se sugiere enviarla al CIAT para confirmar su identidad por métodos serológicos, o pedir los antisueros respectivos al CIAT. Además, se deben pedir cultivos nuevos de la cepa para comparación. Esto es muy importante para poder comparar el comportamiento de las cepas entre diferentes países.

- 3) El medio "Balatti" nos está dando muy buenos resultados para la producción de inoculantes de las cepas de crecimiento lento. Hemos observado 5-10 veces más células por ml. de caldo. En cajas de Petri las colonias producen mucho menos goma, y este medio puede no ser ideal para la caracterización de las cepas.

El Dr. Balatti advierte que algunas cepas no toleran la alta concentración de extracto de levadura durante la fase inicial de crecimiento y sugiere que se debe usar un

inóculo grande crecido en medio LM (aprox. 10% de volumen del caldo. Se sugiere que antes de cambiar al medio Balatti, se debe comparar el crecimiento de la cepa en ambos medios.

### Medio Balatti

	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O .....	0,15 g/l
	NaCl .....	0,15 g/l
*	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O al 10% .....	0,4 ml/l
ó	(MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O al 10% .....	0,3 ml/l)
*	FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O al 10% .....	0,4 ml/l
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0,3 g/l
	KNO <sub>3</sub> .....	0,8 g/l
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0,3 g/l
ó	(NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0.26 g/l)
	Extracto de levadura .....	4,0 g/l
	Glicerol .....	10 ml/l

Nota: Ajustar el pH a 5.5 antes de autoclavar el medio

#### \* Soluciones en Stock

- 4) Hemos tenido problemas con ciertas cepas de crecimiento muy lento (categoría V) que parecen ser muy sensibles al frío. Estas cepas mueren rápidamente bajo refrigeración (en medio de cultivo y en inoculantes). Ejemplos: 995, 870, 3451, 4099, 4103. Si es posible se deben guardar a 15-20°C, y buscar cepas con mas tolerancia al frío, o usar inoculantes liofilizados.
- 5) La lista de cepas recomendadas para inoculación de leguminosas forrajeras está disponible en el CIAT para los que lo soliciten.



GRUPO DE TRABAJO III: CONTROL DE CALIDAD Y  
METODOS DE INOCULACION

Relatores: Margarita Ramírez, J. Kolling y G. Gonzalez Cu

En realidad se manifiesta en esta revisión que no se detectaron problemas en la metodología indicada en el Manual. Algunos problemas están en el equipo y materiales para realizar todas las pruebas.

1. En general no se presentaron problemas en control de calidad de inoculantes. Se utilizó el método de recuento en cajas de Petri o en plantas. Únicamente El Salvador y Panamá no realizaron recuentos. Se presentaron algunos problemas de contaminación por hongos (Cuba, Brasil, Guatemala). Se utilizaron en algunos casos fungicidas como Micostatin. Se cree que en algunos casos el crecimiento de los rizobios es mas lento con fungicidas.
2. El soporte utilizado en algunos casos fué turba esterilizada por el método de autoclave. En Cuba se utilizó esterilización con rayos Gamma y El Salvador que no empleó turba esterilizada. Brasil, Colombia, Cuba y Costa Rica utilizaron turba obtenida en su país, y otros países usaron turba Australiana estéril proporcionada por el CIAT. En todos los casos se utiliza una malla 100 al tamizar la turba.
  - Se consideró que no era necesario estandarizar la turba a través de la red.
  - El tiempo de maduración varió entre 1 y 2 semanas, a

temperatura ambiente (si esta es cercana a 22<sup>o</sup>C) o en incubador (28<sup>o</sup>).

3. Métodos de inoculación.

Invernadero: líquido o en turba.

Campo: en general se inocula la semilla, con excepción de México que inocula al suelo en cultivos de soya y El Salvador y Bolivia que inoculan al suelo.

4. Adhesivos. Se utiliza goma arábiga comunmente o solución de agua con azúcar. En algunos casos miel. La práctica de peletización es variable. En los casos en que se utiliza se emplea roca fosfórica o carbonato de calcio.

5. Nadie utilizó inoculantes liofilizados.

**Prioridades.**

- En general todos los países tienen en común la prioridad de evaluar portadores para inoculantes de acuerdo a los materiales regionales (turba, carbón, cachaza, carbón vegetal, bagazo de caña) etc.

En particular:

Brasil: Evaluar esterilización de turba con microondas.

Colombia: Evaluar efecto de peletización.  
Métodos y dosis de inoculación al suelo.

Costa Rica: Evaluación de inoculantes granulados.

Cuba: Planta de inoculantes.

México: - Evaluación de competencia de cepas en mezclas  
- Métodos de inoculación  
- Plantas de inoculantes

Panamá: Laboratorio  
Perfeccionar métodos de laboratorio e inoculación

Zambia: Evaluación de inoculación  
Evaluación de turba

Otras sugerencias y comentarios:

- Existen problemas de obtención de semillas de leguminosas forrajeras (Cuba, Costa Rica) lo cual es un limitante importante.
- Poca producción de inoculante para leguminosas forrajeras.
- Presionar por un control estatal de calidad de inoculantes.
- Hacer una revisión de literatura acerca de evaluación de portadores.
- Utilizar biblioteca del CIAT.
- FAO apoya investigación de producción de inoculantes.
- Solicitar información sobre como presentar proyectos a instituciones internacionales.

## COMENTARIOS GRUPO DE TRABAJO III

- 1) En cuanto a la turba usada, aunque no se considera necesario estandarizar a través de la red, puede ser mejor usar la turba Australiana hasta que se haya comprobado la necesidad de inocular en nivel comercial, cuando se buscaría la forma más apropiada de producir y utilizar los inoculantes.
- 2) Métodos de inoculación, adhesivos y peletización. No está claro si esto refiere a los ensayos realizados o al nivel comercial. Miel de qué? En Colombia la melaza es tóxica para los rizobios. Si se han variado los métodos de inoculación y los adhesivos y peletizantes utilizados, donde específicamente se ha utilizado cuál método? Sería interesante hacer una lista de los materiales disponibles en cada país.
- 3) Aquí se dice que solamente 2 países no realizaron control de calidad de los inoculantes, en cuanto en el sub-grupo frijol y soya (Grupo de Trabajo I) se dice que solamente Costa Rica y Guatemala realizaron control de calidad, porque los otros países no tenían las condiciones adecuadas. Cual es la versión correcta? En los países donde no se realizó control de calidad, cual fué el problema? Por favor contesten! Necesitamos saberlo;

GRUPO DE TRABAJO IV: ANALISIS ESTADISTICO DE  
DATOS DE RENDIMIENTO Y NODULACION

Relatores: J.J. Soto, M. Guzmán, J.C. Rosas, M. Tang y  
E. Granados.

PROBLEMAS OBSERVADOS Y ALTERNATIVAS DE SOLUCION

1. No se cuenta con métodos adecuados para el análisis de datos cualitativos (nodulación).

Solución:

- a) Realizar, en CIAT, sesiones adicionales para la demostración de métodos de análisis de datos de nodulación.
- b) Si no se cuenta con computador y programas adecuados, enviar a CIAT los datos para su procesamiento/ análisis.

2. Dificultad en la toma de muestras para evaluar nodulación por pérdida de nódulos, en ensayos de campo (suelos de textura pesada; plantas con raíces profundas).

Solución:

Establecer los experimentos bajo condiciones que faciliten la extracción de raíces sin afectar la representatividad del área de impacto; realizar las evaluaciones en la fase de crecimiento temprana.

3. El uso de 4 surcos es insuficiente como la unidad experimental en ensayos de frijol. Al eliminarse los surcos bordes, sólo se pueden usar dos surcos centrales para muestreo.

Solución:

Modificar la unidad experimental a 6 surcos de 4 metros de largo.

4. Existencia de altos coeficientes de variación en los ensayos.

Solución:

- a) Aumentar, en lo posible, el número de repeticiones.
- b) Identificar y controlar factores agronómicos que puedan causar una mayor variabilidad.
- c) Planificar adecuadamente el establecimiento de los ensayos.
- d) Tomar varias muestras dentro de parcelas en vez de una sola muestra, cuando sea posible.
- e) Consultar con el personal de Biometría para el establecimiento de ensayos, análisis e interpretación de resultados.

5. Falta de apoyo del personal de biometría y/o poco interés del investigador en consultar con el mismo sobre los problemas pertinentes.

Solución:

Fomentar la participación directa del biometrista en la planificación y ejecución de los ensayos y/o incrementar el interés de parte del investigador.

6. No se han definido los métodos de análisis para los casos de desuniformidad en el número de plantas en la unidad de muestreo.

Solución:

Recomendar la utilización de la técnica de covarianza.

7. No se dispone de computadores y/o programas adecuados para el análisis de datos.

**Solución:**

- a) Utilizar el sistema SAS, SPSS u otras de las computadoras de la red del CIAT; o que se faciliten los programas necesarios.

**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

1. Existe interés en todos los miembros de la red en utilizar los procedimientos estadísticos, pero se requiere de adiestramiento adicional con respecto a ciertos métodos específicos para el manejo y procesamiento de datos.
2. Es necesario identificar el "mecanismo" adecuado para fomentar la comunicación entre el investigador y el biometrista, para la solución de los problemas discutidos.

GRUPO DE TRABAJO V: ENSAYOS DEL TIPO ETAPA III  
(MANEJO AGRONÓMICO DE LA SIMBIOSIS)

Relatores: J.F. Aguirre, G. Hernández, P. Selbach, C. Reyes  
y O. Coto.

OBJETIVO : Discutir prioridades de ensayos relevantes para  
probar efectos de manejo sobre la fijación  
biológica de nitrógeno.

1. Interacción de la inoculación con pesticidas aplicados a la semilla.

Hasta el momento, no existen trabajos desarrollados en ninguno de los programas de la red (pastos, frijol ó soya), sin embargo se establece la necesidad de evaluar el efecto de los fungicidas, principalmente y dosis de los mismos en la inoculación con rizobios. Se sugiere una mayor participación del CIAT en trabajos de investigación al respecto.

2. Efecto de pesticidas aplicados a la planta y al suelo sobre la fijación de  $N_2$ .

En este caso, hubo una consideración generalizada entre los programas para estudiar el efecto de fungicidas, herbicidas e insecticidas en la simbiosis leguminosa-rizobio. Se hace notar que en algunos países, existen diferentes necesidades de evaluación de estos pesticidas. Para la ejecución de estos trabajos se apoyará a la red con una revisión de literatura en estos temas que será proporcionada por el equipo de Brasil. Así mismo, en el caso de pastos se tiene una primera recomendación de la sección de semillas (Pastos Tropicales) del CIAT sobre el efecto de algunos pesticidas



en varias plantas forrajeras.

3. Efecto de la preparación de la tierra en la respuesta a la inoculación.

Para ambos programas se hace necesario efectuar trabajos de investigación de la simbiosis en terrenos de mayor mecanización, dependiendo del tipo de productos o de los sistemas de producción de interés para cada país.

4. Interacción de aplicaciones de Mo con la respuesta a la inoculación.

El papel de este elemento en la simbiosis leguminosa-rizobio es muy conocido. Ante esta situación, es conveniente el establecimiento de ensayos que ayuden a conocer la respuesta a este y otros nutrimentos. Además, analizar la posibilidad de producir semillas que contengan cantidades mayores de Mo.

5. Efecto de fuentes, niveles y métodos de aplicación de P en fijación de  $N_2$  ó respuesta a la inoculación.

Existen países que normalmente aplican este nutrimento y algunos están desarrollando trabajos al respecto. Sin embargo, se hace necesario desarrollar investigación con especies forrajeras y de grano con combinaciones leguminosa-rizobio adaptadas a bajos niveles de P. Es necesario reunir a la red de fertilidad de suelos con este proyecto para una mejor integración de los programas.

6. Comparación de métodos de inoculación.

Solo algunos equipos de la red tienen experiencia en la evaluación de métodos de inoculación con cepas aplicados al suelo ya sea a través de inoculante granulado ó liofilizado o bien con la peletización. Para tal fin cada país identificará los métodos más apropiados para evaluación con agricultores.

## COMENTARIOS GRUPO DE TRABAJO V

1) No se mencionó el posible efecto de inoculación en la habilidad de las plantas para competir con las malezas. Esto puede ser especialmente importante en leguminosas forrajeras tropicales que pueden ser dominadas por las malezas durante la fase de establecimiento, y el uso de herbicidas puede ser anti-económico.

2) Faltó discutir con más detalle el papel de ensayos en finca en la Etapa III.

Antes de realizar ensayos del tipo descrito arriba en estaciones experimentales, es indispensable evaluar las combinaciones leguminosa-rizobio seleccionadas en Etapas I y II bajo condiciones de finca. El objetivo de esto es determinar si los incrementos en fijación de  $N_2$  que se han logrado a través de las selecciones hechas en Etapas I y II también se expresan bajo las condiciones sub-optimales del manejo por agricultores. Solo es necesario realizar ensayos en la Etapa III en estaciones experimentales si se han identificado problemas específicos y posibles soluciones en nivel finca. No tiene sentido demostrar el efecto de factores de manejo sobre la fijación de nitrógeno en estaciones experimentales, si no es posible manejarlos en nivel de finca.

Los ensayos en fincas deben ser sencillos e incluir todos los aspectos de la tecnología, no solamente el aspecto que le interesa al investigador. Una manera sencilla de diseñar ensayos en finca es de utilizar el mismo manejo que utiliza el agricultor, y agregar componentes del manejo "mejorado" en diferentes tratamientos. Por ejemplo:

1. Combinación leguminosa-rizobio del agricultor  
Fertilización del agricultor

Deshierba del agricultor

2. Combinación leguminosa-rizobio mejorada  
Fertilización del agricultor  
Deshierba del agricultor
3. Combinación leguminosa-rizobio mejorada  
Fertilización mejorada  
Deshierba del agricultor
4. Combinación leguminosa-rizobio mejorada  
Fertilización mejorada  
Deshierba mejorada
5. Combinación leguminosa-rizobio del agricultor  
Fertilización mejorada  
Deshierba mejorada

En los Llanos Orientales de Colombia se realizó un ensayo de este tipo usando diferentes leguminosas forrajeras tropicales con y sin inoculación. Se mostró que la fertilización fué el factor más limitante; los agricultores no podían o no querían fertilizar leguminosas forrajeras. La deshierba y la combinación leguminosa-rizobio fueron menos problemáticos. Se planificó una segunda serie de ensayos usando el pre-cultivo con arroz, donde el arroz se fertiliza y cosecha, y posteriormente se siembran las combinaciones leguminosa-rizobio. De esta manera, el agricultor obtiene un beneficio de la inversión en los fertilizantes en menos tiempo, y la combinación leguminosa-rizobio beneficia del fertilizante residual. Los cuatro tratamientos nuevos fueron:

1. Combinación leguminosa-rizobio del agricultor  
Fertilización del agricultor  
Epoca de siembra del agricultor

2. Combinación leguminosa-rizobio mejorada  
Fertilización del agricultor  
Epoca de siembra del agricultor
  
3. Arroz mas fertilización  
Combinación leguminosa-rizobio del agricultor  
Epoca de siembra posterior
  
4. Arroz mas fertilización  
Combinación leguminosa-rizobio mejorada  
Epoca de siembra posterior

Se espera que este ensayo representará una tecnología más fácil de adoptar por los agricultores, aunque es probable que se necesitarán mas adaptaciones.

GRUPO DE TRABAJO VI: TRABAJO EN EQUIPO  
Y COMUNICACIONES

Relatores: Stela Midlej Silva, Rolando Aguilera, Trudy Brekelbaum, Silos Gonzales y Renato Valenzuela.

En varios eventos científicos se ha propuesto la conformación de redes internacionales de investigación para apoyar los trabajos sobre la fijación biológica de nitrógeno. En Noviembre 1985, en un curso de capacitación en Porto Alegre, Brasil, se formó una red para la evaluación, selección y manejo agronómico de la simbiosis leguminosa-rizobio en frijol y en pastos tropicales. En el taller de seguimiento en el CIAT en 1987, se discutieron algunos problemas con la comunicación y trabajo en equipo encontrados por los equipos de la red durante la fase de aplicación práctica. Se espera que esta discusión ayudará a mejorar la función de la red.

Se dividió la discusión en 5 sub-temas:

- Equipos de trabajo y su formación.
- Problemas que existen en el trabajo de equipos y posibles soluciones.
- Apoyo institucional al trabajo y los equipos.
- Comunicación dentro de la red.
- Varios.

1) Equipos de trabajo y su formación.

De los 36 investigadores presentes, 31 realizan su trabajo FBN como parte de un equipo. Los que no participan en equipos

están tratando de trabajar sobre ambos componentes (microbiológico y agronómico) de la simbiosis, y esperan poder conformar equipos dentro de poco tiempo. Se enfatizó que el interés igual de todos los miembros del equipo en el trabajo es muy importante. Deben tener el mismo nivel de responsabilidad, y estar conscientes de que su trabajo es complementario. Algunas ideas sobre la formación de equipos y el mejoramiento de equipos existentes fueron:

- Un equipo verdaderamente funcional debe formarse de 2 ó más personas que estén igualmente interesadas en el trabajo que van a desarrollar. Las personas deben ser igualmente responsables y deben tener conciencia que el trabajo de unos complementa el de los otros.
  - Se plantearon ideas para conformar los equipos que por una u otra razón no están formados y se resumen así:
    - a) Conseguir el apoyo de la institución nacional donde se trabaja y de las instituciones internacionales de apoyo.
    - b) Contratar y/o entrenar personal técnico.
    - c) Motivar la participación de otros investigadores dentro o fuera de la institución donde se labora.
- 2) Problemas que existen en el trabajo de equipos y posibles soluciones.

#### 2.1 Las dificultades encontradas fueron:

- Falta de tiempo para reunirse debido a las prioridades de trabajo que establece la institución.
- Separación física (distancia) de los miembros del equipo.
- Dificultad para planear en conjunto el trabajo (debido a la priorización de trabajo de los miembros del equipo en las instituciones).
- Dificultad en obtener personal de apoyo

calificados para la investigación.

- Desigualdad en la responsabilidad de funciones entre los miembros del equipo.

2.2 Las soluciones planteadas fueron:

- Definir en la institución las prioridades de trabajo de los miembros del equipo.
- Planificar y coparticipar en forma conjunta.
- Buscar la disponibilidad de recursos financieros para el proyecto.
- Concientizar a las autoridades con poder de decisión de la importancia del proyecto.
- Entrenar personal técnico de apoyo dentro o fuera de la institución.

3) Apoyo institucional a los trabajos y a los equipos.

Dentro de los factores detectados a través de la dinámica de participación de los equipos, se pudo encontrar que existen aspectos positivos y negativos, todos y cada uno interactuando en formas particulares en cada país. De un análisis particular de la coordinación de la red se podría buscar las posibles soluciones y los aspectos negativos de cada equipo.

Los planteamientos positivos expresados fueron:

- Existe apoyo institucional para la mayoría de los casos.
- Existen algunos recursos humanos dentro de las instituciones.
- Existe deseo de colaborar de los investigadores actualmente involucrados.
- Algunas instituciones tienen conciencia de la importancia de la fijación simbiótica de nitrógeno.
- Existen estudiantes tesistas con deseos de investigar.
- Algunos países tienen metas definidas en la

investigación de la simbiosis R-L.

- Existen proyectos definidos de investigación en FBN de algunas instituciones nacionales con otras instituciones a nivel nacional e internacional.
- Existe equipo de laboratorio que a través de convenios puede utilizarse en otras instituciones en cada país.

Los planteamientos negativos expresados fueron:

- Dificultad en la adquisición de equipos y materiales importados empleados en la investigación de la simbiosis L-R.
- Baja prioridad dentro de algunas instituciones para el estudio de FBN.
- Dificultad en la fluidez de adquisición de los materiales y recursos humanos.
- Inestabilidad de los niveles de dirección institucional que puede repercutir en la línea de investigación de FBN.
- La disminución continuada de los presupuestos de las instituciones de los países que conforman la red.
- Aunque cada institución cuenta con recursos humanos, estos no han recibido suficiente capacitación para investigar FBN.
- Los investigadores de la red en su mayoría tienen sobre carga de funciones dentro de la institución.
- Existe falta de estímulos para los investigadores por parte de la mayoría de las instituciones.

4) Comunicación dentro de la red.

Se estableció que se debe aumentar la comunicación entre los miembros de la red, y particularmente de los grupos de investigación a la coordinación central. Para solucionar este problema fueron sugeridos los siguientes puntos:

- Elaborar un formato que permita con una frecuencia



mínima de 3 meses enviar a la coordinación un informe de la situación del trabajo que incluya datos sobre avances, dificultades, eventos científicos ligados a FBN, cambios en la administración institucional y cualquier otro aspecto que beneficie la información dentro de la red.

- Se comentó que la comunicación por teléfono ha facilitado mucho el trabajo dentro de la red, ya que en poco tiempo se han solucionado problemas.
- Se recomendó que se envíen a cada grupo las "páginas de contenido de CIAT" referentes a la investigación en FBN.

5) Varios.

Dentro de este aspecto se comentó la utilidad del audiotutorial sobre simbiosis L-R y se manifestó que el mismo tenía una gran aplicación práctica y educativa que puede facilitar la comunicación y el conocimiento.

WORKING GROUP I: TECHNIQUES FOR THE AGRONOMIC  
EVALUATION OF THE LEGUME-RHIZOBIUM SYMBIOSIS

PASTURES SUBGROUP

Rapporteurs: Reinaldo Bertola Cantarutti, Rosemary Sylvester-Bradley and Esteban Arosemena.

The purpose of this working group was to review the methods used by the various teams, identify the problems encountered and discuss possible solutions.

The main constraints experienced were:

1. Lack of a greenhouse
2. Lack of necessary equipment for minimum tillage
3. Difficulties in introducing PVC tubes into clayey soils
4. Pest attack (ants)
5. Weed control under minimum tillage conditions
6. Undefined nutritional deficiencies
7. Climatic constraints

At each site solutions to these problems were sought and identified. For example:

1. To overcome the lack of a greenhouse, simple ones were built using materials such as wood, plastic roofing tiles and screening. This structure provided adequate conditions for soil core experiments.
2. To prevent damage to the PVC tubes when introducing them into the soil:

Good results were obtained by using a tractor piston casing with an internal diameter similar to that of the tube. To adjust diameters, the steel casing was shaved two mm using a mechanical lathe, and the soil-penetrating end was sharpened. This prevents damage to the tubes from soil pressure and the blows given to the tubes to introduce them into the soil.

Another effective and simpler method was to place a board on top of the PVC tube in order to distribute the impact more uniformly across the top.

3. To replace the chisels and cultivator recommended for minimum tillage, a motor tiller was used, forming a one metre-wide strip. Two rows of plants were sown near the edges of this strip, where the grass competes more for mineral nitrogen.

Based on their experiences, the team members made the following recommendations:

1. Complete fertilization (macro- and micronutrients) should be used, except where nutritional requirements have been clearly identified in local soils.

The use of micronutrients is especially important because soil nutrient analyses do not necessarily show quantities available to plants.

For soil core experiments it is recommended that the levels of nitrogen be higher and that applications be split weekly or biweekly in increasing quantities. Levels should be defined on the basis of expected dry matter production. As production varies from 5 to 10 g/core and nitrogen concentration is around 3%, these levels should

be between a total of 150 to 300 mg of N per core. In field experiments the exact dates of the N applications should be flexible according to weather conditions (mainly soil moisture). Applications should be delayed if weather conditions are inappropriate, and subsequent applications made at shorter intervals to give the total quantity of N required.

To achieve high N levels in the field, the intensity of grass competition should be considered. The greater the competition, the greater the N levels applied should be, to avoid a decrease in the response to N.

2. When difficulties in obtaining soil moisture and field capacity data are experienced, the soil moisture present at the time of removing the core can be used. For this, it is important to take the cores when soil moisture is adequate (observe if there are signs of drought in plants in the field) and weigh them immediately after collection.
3. No significant block effect has been found on the basis of core weight categories. Thus even when there is a wide range of core weights a completely randomized design can be used. However, in this case soil moisture should be adjusted on the basis of individual weights.
4. As an alternative to making peat-based inoculants for greenhouse experiments, inoculation of the soil around the seed with a cell suspension (i.e., the growth medium itself) can be used. It is important to count the cells being added in the volume applied.
5. In field experiments (with forage legumes only) a change in the nodule evaluation dates is recommended due to the difficulties of conducting this work on older plants. Two

dates are recommended: an early one six weeks after germination and a late one at flowering or at twelve weeks (whichever occurs first).

6. Weeds should be controlled in Stage 1 and 2 field trials, at least in the planting row. Herbicides should be used only when there is absolute certainty that rhizobia or inoculants will not be harmed.

It was agreed that, in general, teams used the methods proposed in the Methods Manual, in particular the evaluation of strains under low N conditions. A very important conclusion was that each team came up with different solutions to obtain the minimal conditions required for their work, which shows their high level of motivation.

## COMMENTS ON WORKING GROUP I

(Rosemary S. Bradley)

## Pastures Subgroup

- 1) The method for introducing PVC tubes for soil cores developed by the Peruvian group has been omitted. They made a special instrument from a heavy metal tube about 150 cm long with a circular metal disc of about 20 cm diameter fixed to the base. This instrument is dropped onto the tops of the PVC tubes so its weight is evenly distributed over the tube in a vertical direction. This ensures that the tubes do not enter crookedly into the soil and thus fewer of them are damaged.
- 2) A preliminary version of a supplement to the Methods Manual on the statistical analysis of qualitative nodulation data has been written. The draft is available now on request.
- 3) We have done some greenhouse experiments increasing the nitrogen fertilizer levels applied over time, and shortening the growth period.

For example 20, 40, 60, and 80 kg N/ha were applied at 10, 20, 30 and 40 days after planting respectively, and the plants were cut at 50 days for fast-growing legumes (e.g. Centrosema and Pueraria). For slower-growing legumes (e.g. Stylosanthes and Desmodium) the same levels of N are applied but at wider intervals (e.g. every 12 days with the cut at 60 days). The necessary time for adequate plant growth, without excessive growth which results in nutrient deficiencies, varies between soils and climates. The times suggested in the Manual (8-12 weeks)

- are probably too long for most sites. It is recommended that the dry weight of the tops per core should not exceed 10g in any treatment. When the time is reduced, the second application of K, Mg and S should be made 3-4 weeks after planting, and all the P can be applied at planting.
- 4) In the case of greenhouse experiments with relatively few treatments, where undisturbed soil cores are being used it may be preferable to use 6 inch rather than 4 inch diameter PVC tubing because better plant development is achieved. The length can be reduced to 20 cm.

WORKING GROUP I: TECHNIQUES FOR THE AGRONOMIC  
EVALUATION OF THE LEGUME-RHIZOBIUM SYMBIOSIS

BEAN AND SOYBEAN SUBGROUP

Rapporteurs: Joann Roskoski, Paulina Pineda and Judy Kipe-Nolt

This subgroup was composed of bean and soybean researchers from seven countries. We discussed the use and the appropriateness of the methods in the manual:

I. Methods related to greenhouse trials

Five of the seven countries have conducted greenhouse trials (CIAT, C, G, ES, CR). Of this group, two used nitrogen-poor soil, one undisturbed soil, and two attempted to decrease soil N by using soils where cereals have been planted. Only one of the five used the soil core method, while the rest used pots. The group agreed that it may be difficult to remove the cylinders from soils with high clay content. The researcher who used them lost 5% in the removal process. The experimental designs used were completely randomized and randomized blocks. In one case there was an effect of pot position in the greenhouse. By using a block design this problem can be corrected in the future.

*	B	=	BOLIVIA
	C	=	ICA, COLOMBIA
	CR	=	COSTA RICA
	ES	=	EL SALVADOR
	G	=	GUATEMALA
	Z	=	ZAMBIA
	CIAT	=	CIAT, COLOMBIA



The majority of researchers did not calculate field capacity of their soils and applied irrigation when it appeared to be necessary. This probably increased the variance in the trials. Fertilizer application was done on the basis of soil analyses and on recommendations normally made for the field. The majority did not take into account the difference in volume of soil per plant in pots as compared to the field (as discussed in the manual). Levels ranged from 0 to 160 kg/ha of N. Many, but not all, applied P. Toxicity was not observed, but in some trials the plants in pots that did not receive N fertilizer were chlorotic.

Two inoculant application methods were used: (1) liquid applications with levels of about  $5 \times 10^8$  cells per plant, or (2) inoculation in the form of peat with a smaller dose of approximately  $3 \times 10^6$  cells per plant. Everyone agreed that the quantity of cells and inoculation method should be standardized.

## II. Methods related to field experiments

### Land preparation

Two researchers chose low-nitrogen sites (Z, ES), three tried to lower N levels by planting cereals before conducting trials (B, CR, G), and one selected a site that had been planted with maize and also applied sawdust to reduce soil N (CIAT). The majority (C, G, B, Z, ES, CIAT) plowed the fields before planting, but a trial was also conducted under minimum tillage conditions (CR).

Suggestions for selecting better experimental sites in the future were as follows:

Sites with less soil N (C, B, ES)

Sites with fewer native rhizobia (Z, C)

Sites with available irrigation (C)  
Sites outside the experimental station (B)  
Conduct the trial in more sites (CR)

#### Nitrogen fertilizer

Nitrogen application to the 4:1 plots was done in doses ranging from 35 kg N/ha (Z), to 100 kg/ha (CR, B) and to 120 kg N/ha (C, G, CIAT, ES, Z). The total application was divided into two to six parts, and all obtained a response to the N treatment.

#### Experimental designs

The experimental design used in some trials was a split plot design with N or inoculation treatments as main plots and bean genotypes as subplots (B, Z, CIAT, G, C). Randomized block designs were also used in other trials (CR, ES, Z, CIAT).

#### Loss of experiments

In general not many trials failed (less than half); the ones that did, failed mainly due to excess (G, Z) or lack of water (C, B, CR). It was suggested that in the future it would be good to conduct at least one of the trials where the possibility of irrigation exists. In general, the type and quantity of fertilizers applied were appropriate to guarantee good yields. There were pest problems (CIAT, CR, ES, Z), and pesticides were applied for their control (CIAT, ES, CR).

#### Inoculation

Inoculant was applied in the form of peat, but the rates were variable. Some used seed pelleting and the same dose per plant utilized in the greenhouse trials. Others applied

granular inoculants to the soil. CR and G did quality control of the inoculants, but the others did not have the necessary resources. Strains for the trials were selected on the basis of performance observed in previous greenhouse trial (CR, ES, G), or strains recommended by NIFTAL, CIAT or MIRCEN were used. Part of the group agreed that standard strains per trial should be utilized; others disagreed, arguing that one strain in particular cannot function well at all sites (on the basis of given information? It should be possible to recommend strains at least for given soil types).

### Evaluations

Nodulation observation dates varied from country to country, but all carried out at least two harvests and some, three. It was agreed that researchers should not only indicate the number of days after planting when nodulation is evaluated, but also the plant developmental stage. For example V3= an early vegetative stage. For those who do not know how to describe these stages, CIAT should provide this information. The nodulation parameters used were: Number of nodules (CIAT, ES, C, B, Z); Nodule weight (ES, B, C, G, CR); and Nodule color (CIAT, B).

Harvest dates varied from 70 to 80 days for beans and approximately 110 days for soybeans (C). Analyses of plant N in the greenhouse trials were made for half of the trials (G, CR, CIAT, ES). Others indicated that their laboratories did not have the capability for conducting this type of analysis (Z, B). None analyzed plant N in the field trials. All had information on soils and climate, which is included in the reports.

### III. Other discussion topics

A common concern was the variability in the nitrogen analyses. It was suggested that CIAT should send network researchers a standard sample of plant tissue with a known nitrogen content. By using this standard, a researcher knows whether his/her material is variable or whether there are problems in the method of analysis.

Another important point was mentioned regarding nitrogen analysis. When a large quantity of nitrogen is applied, which is common in +N checks, it is necessary to modify the Kjeldahl method to include  $\text{NO}_3$  in the analysis. The reason for this is that when the plant absorbs a lot of mineral nitrogen, it can contain a significant proportion of nitrogen as nitrate and the standard Kjeldahl method does not include nitrate. The modification, which is relatively simple, consists of incubating before the digestion stage with salicylic acid.

Another important point was the method of calculating the amount of nitrogen required by the +N pots to inhibit nodulation. A simple method is to estimate the maximum expected plant size; for example, beans produce approximately 20 g of dry weight for every two plants. If a nitrogen content of 3% is assumed, these 20 g contain 600 mg of nitrogen. If three times more nitrogen is applied than is harvested in the pot (i.e.,  $3 \times 600$  mg), it is necessary to apply 1800 mg to the pot. To ensure that this nitrogen is not lost as a result of irrigation, it is convenient to apply the 1800 mg in separate doses.

Another topic regarding nitrogen was the need to decrease soil nitrogen content, especially in greenhouse trials. It was suggested that CIAT test "N-serve" and see if this product could be useful for lowering available soil N.

Everyone agreed on the importance of maintaining constant soil moisture in pot trials. For good growth plants must be watered more than once a day and the pots weighed each week. Using bigger pots was recommended.

The last point discussed was the difference between basic and applied research and extension; and whether it was possible to conduct basic studies within a scheme of applied research due to the fact that the ultimate user of the symbiosis, the small farmer, must not be forgotten. In the case of trials to determine maximum yield potential with optimum nitrogen, it is necessary to apply much higher nitrogen rates to the controls with nitrogen than the farmer can use; but the purpose of this research is to establish symbiotic potential and then adapt it to real world practices. Nevertheless, small farmer practices can be incorporated from the beginning, for example by using undisturbed soil in greenhouse trials if the farmer uses minimum tillage.

WORKING GROUP II: MAINTENANCE AND CHARACTERIZATION  
OF RHIZOBIUM STRAINS

Rapporteurs: Maria Ines Castellanos, Mirta López, Lidieth  
Uribe, Elias Ramirez and María Valdés.

Conclusions

The methods used by each team participating in the network were described. None of the teams expressed concern regarding methods for characterization or maintenance of strains. Only two of the teams are working with locally isolated strains (Cuba and Brazil), the former in order to compare their own strains with those recommended by CIAT, and the latter because the strains recommended by CIAT were not effective.

It was emphasized that great care is needed to ensure that the symbiotic characteristics of the strains do not change during the maintenance of the culture collection. Porcelain chips for strain preservation could be used more widely; this is a simple cheap method which is appropriate for almost any laboratory. For those who work with R. phaseoli, the viability of strains after freeze-drying should be checked. If isolations are made locally and suitable methods for preserving them are not available, the best ones may be sent for preservation in the CIAT collection.

For those who work with forage legumes, the need for reference strains was discussed, both for laboratory work and inoculation experiments. It was agreed that CIAT, in view of their previous experience with selection of strains for various legumes, should inform the collaborators as to which strains should be used for reference for each legume.

Several tubes should be inoculated from the original culture of a given strain and used for routine work. If the strain is received as a freeze-dried culture, sufficient ampoules should be requested, so that at least one is always available in reserve.

The ingredients for the yeast mannitol medium are almost all imported and may be difficult to obtain, so some participants reported that they had successfully grown strains using alternative carbon substrates. To substitute mannitol, sucrose can be used for fast-growing strains, and glycerol for slow-growing strains. Substances which hydrate easily, such as yeast extract should be transferred to smaller containers, or kept in a desiccator.

It was suggested that one person should be responsible for maintaining the strains.

## COMMENTS ON WORKING GROUP II

- 1) This report is a combination of two that we received. Please inform us if you think it seriously misrepresents the discussion.
  
- 2) When freeze-dried ampoules are opened, never assume that the culture is pure. It should be streaked to ensure that it is pure. For Bradyrhizobium, keep the strains in Petri plates with YMA pH 5.5 sealed with Parafilm, under refrigeration for no more than 3 months (at pH 6.8 the strains die in the cold more rapidly). Subculture from 3 colonies for routine work. A new ampoule should be opened at least once a year.

If a strain shows variable symbiotic performance, it should not be assumed that it is genetically unstable. It should be returned to CIAT to confirm its identity, or antisera should be obtained. A new culture should also be substituted. This is very important since one of our objectives is to compare strain performance in different countries.

- 3) "Balatti" medium is giving very good results for inoculant production of slow-growing strains. 5-10 fold more cells/ml of broth have been observed. In Petri plates the cultures produce less gum and therefore appear to be less developed. The different appearance of the cultures on this medium means that it is not ideal for strain characterization.

Dr. Balatti warns that some strains do not tolerate the high concentration of yeast extract during the initial growth phase and suggests that a preinoculum grown in YM



should be used (about 10% volume of broth). We suggest that before changing to Balatti's medium, the growth of the strain should be compared in both media.

Balatti medium (broth):

MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.15 g/l
NaCl	0.15 g/l
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O (10%)	0.40 ml/l
or (MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O (10%))	0.30 ml/l)
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O (10%)	0.4 ml/l
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.3 g/l
KNO <sub>3</sub>	0.8 g/l
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.3 g/l
or (NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	0.26 g/l)
Yeast extract	4.0 g/l
Glycerol	10.0 ml/l

Note: Adjust pH to 5.5 before autoclaving.

- 4) We have had problems with some strains (category V) which seem to be very sensitive to the cold. These strains die when refrigerated (in growth medium and in inoculants). Examples: 995, 870, 3541, 4099, 4103. If possible they should be kept at 15-20°C, and strains which tolerate cold should be selected, or use freeze-dried inoculants.
- 5) The list of recommended strains for tropical forage legumes is available in CIAT to those who request it.

WORKING GROUP III: INOCULANT QUALITY CONTROL  
AND INOCULATION METHODS

Rapporteurs: Margarita Ramirez, J. Kolling and G. Gonzalez Cu

No problems were found with the methodology indicated in the Manual; nevertheless, there were some problems with the equipment and the materials for conducting the tests.

1. In general, no problems arose with inoculant quality control methods. Counts in Petri plates and on plants were used. Only El Salvador and Panama did not conduct counts. There was some fungal contamination (Cuba, Brazil, Guatemala). Fungicides such as Micostatin were used in some cases. However, some rhizobia grow more slowly with fungicides.
- 2) The carrier used in some cases was peat sterilized in an autoclave. In Cuba, gamma irradiated peat was used, and El Salvador used unsterilized peat. Brazil, Colombia, Cuba and Costa Rica utilized peat obtained locally. Other countries used sterile Australian peat supplied by CIAT. In all cases a 100 screen was used for sifting the peat. It was not considered necessary to standardize the peat throughout the network.

The maturation time ranged from 1 to 2 weeks at ambient temperature (near 22°C) or in incubator (28°C).

- 3) Inoculation methods

Greenhouse: liquid or peat inoculants were used.

Field: in general the seed was inoculated, except in Mexico, where they inoculated the soil for soybeans; and El Salvador and Bolivia, where they inoculated the soil.

- 4) Gum arabic or a water and sugar solution are commonly used as adhesives; in some cases honey is utilized. The pelletization practice is variable, when used, rock phosphate or calcium carbonate are employed.
- 5) No one used freeze-dried inoculants

### Priorities

- a. In general, all countries have the common priority of evaluating inoculant carriers using locally available materials such as peat, coal, charcoal, sugarcane bagasse, etc.

In particular:

Brazil: Evaluate peat sterilization with microwaves

Colombia: Evaluate pelletization effects  
Methods and rates of soil inoculation

Costa Rica: Evaluation of granulated inoculants

Cuba: Inoculant production plant

Mexico: Evaluation of strain competition in mixtures  
Inoculation methods  
Inoculant plant production

Panama: Laboratory  
Improve lab and inoculation methods

Zambia:       Evaluation of inoculation  
              Evaluation of peat

Other suggestions and comments:

- There are problems in obtaining forage legume seeds (Cuba, Costa Rica), which is an important constraint.
- Little inoculant production for forage legumes.
- There is a need to promote government control of inoculant quality.
- Make a literature review on carrier evaluation.
- The services of the CIAT library should be used.
- FAO supports research on inoculant production.
- Information should be requested on how to present projects to international institutions.

## COMMENTS ON WORKING GROUP III

- 1) Although it was not considered necessary to standardize the peat used across the network, it may be preferable to use Australian peat until the need for inoculation at a commercial level has been shown. The most appropriate way to produce and use inoculants would then be identified.
- 2) Inoculation methods, adhesives and pelleting. It is not clear whether this refers to the experiments done or to commercial use of inoculants. What kind of honey? In Colombia sugar cane molasses is toxic to rhizobia. If the methods of inoculation, adhesives and pelleting agents used vary, where specifically has which method been used? It would be interesting to make a list of the materials available in each country.
- 3) Here it says that only 2 countries did not carry out quality control of the inoculants, while in the Bean and Soybean subgrup (Working Group I) it says that only Costa Rica and Guatemala carried out quality control, because the other countries did not have appropriate conditions. Which is the correct version? In countries where quality control was not done, what was the problem? Please answer! We need to know!

WORKING GROUP IV: STATISTICAL ANALYSIS OF  
YIELD AND NODULATION DATA

Rapporteurs: J.J. Soto, M. Guzman, J.C. Rosas, M. Tang and  
E. Granados.

PROBLEMS OBSERVED AND ALTERNATIVE SOLUTIONS

1. Inadequate methods for statistical analysis of qualitative data (i.e., nodulation).

Solutions:

- a. Provide additional in-service training at CIAT to demonstrate the methods for analysis of nodulation data.
- b. If appropriate computer and programs are not available, send data to CIAT for processing/analyzing on mainframe computer.

- 2) Difficulty in taking samples to evaluate nodulation because of loss of nodules in field trials (heavy textured soils, plants with deep root system).

Solution:

- Establish experiments under conditions that facilitate the extraction of roots without affecting the representativity of the area; do evaluation at early growth phase.

- 3) The use of four rows is insufficient for the experimental unit in bean trials. When the border rows are eliminated, only the two central rows can be used for sampling.

Solution:

- Increase the experimental unit to six 4 m long rows.

- 4) Existence of high coefficients of variation in trials.

Solution:

- a. Increase, where possible, the number of replications.
- b. Identify and control agronomic factors that can cause major variability.
- c. Plan the establishment of the trials adequately.
- d. Take several samples within plots rather than just one sample where possible.
- e. Consult biometrician to help in the establishment of trials, data analysis and interpretation of results.

- 5) Lack of support from biometrics personnel and/or little interest on the part of the researcher to consult with them on pertinent problems.

Solution:

- Promote the direct participation of the biometrician in the planning and execution of trials and/or increase the researcher's level of interest.

- 6) The problem of variability in the number of plants/sample has not been addressed.

Solution:

- Use the covariance technique

- 7) Computers and/or adequate programs are not available for data analysis.

Solution:

- Utilize SAS, SPSS or other programs used at CIAT or supply the necessary programs.

**CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS**

1. There is interest on the part of the members of the network in using statistical methods, but they need additional training with respect to some specific methods for handling and processing data.
2. It is necessary to identify an adequate "mechanism" for increasing communication between the researcher and biometrician to solve the problems discussed herein.



WORKING GROUP V: STAGE III TYPE EXPERIMENTS  
(AGRONOMIC MANAGEMENT OF THE SYMBIOSIS)

Rapporteurs: J.F. Aguirre, G. Hernandez, P. Selbach, C. Reyes  
and O. Coto.

Objective: Discuss priorities of relevant trials to test  
effects of agricultural management on BNF.

- 1) Interaction of inoculation with pesticides applied to the seed.

To date, none of the programs in the network (pastures, beans or soybeans) has done work in this area; nevertheless, there is a need to assess the effect of fungicides, above all, and the rates of the same on inoculation with rhizobia. It was suggested that CIAT participate to a greater extent in this research.

- 2) Effect of pesticides applied to the plant and to the soil on N<sub>2</sub> fixation.

There was a consensus among the programs that the effect of fungicides, herbicides and insecticides on the legume-rhizobia symbiosis should be studied. It was noted that there are differing needs in this regard. The network will be given support in the form of a literature review on these subjects to be supplied by the team from Brazil. In the case of pastures, the tropical pastures seed program at CIAT has made an initial recommendation on the effect of some pesticides on some forage plants.

- 3) Effect of land preparation on response to inoculation.  
Both programs need to carry out research on the effect of

soil mechanization on the symbiosis according to the type of products and production systems of interest in each country.

- 4) Interaction of Mo applications with response to inoculation.

The response of the legume-rhizobium symbiosis to Mo is well known. Thus trials should be established to learn more about the response of this and other nutrients, as well as study the possibility of producing seeds with higher quantities of Mo.

- 5) Effects of P sources, levels and methods of application on  $N_2$  fixation, as well as on response to inoculation.

Some of the countries are applying this nutrient and are carrying out research on it. It is important to conduct research on both forage and grain species with legume-rhizobium combinations adapted to low levels of P. Contacts should be made with the network of scientists working on soil fertility for a better integration of work being done by the two programs.

- 6) Comparison of inoculation methods.

Only some of the countries in the network have experience in evaluating inoculation with strains applied to the soil, whether via granulated or freeze-dried inoculants. Each country will identify appropriate methods for testing with farmers.

## COMMENTS ON WORKING GROUP V

1) The possible effect of inoculation on the ability of plants to compete with weeds was not mentioned. This may be especially important in tropical forage legumes which may become swamped by weeds during the establishment period, and herbicide use may not be feasible due to high costs.

2) A more detailed consideration of the role of on-farm trials in Stage III is needed.

Before conducting experiments of the type described above on experimental stations, it is essential to test the legume-rhizobium combinations selected in Stages I and II under on-farm conditions. The objective of this is to determine whether the improvements which have been made in the symbiosis through selection are expressed under the farmers' sub-optimal conditions. It is only necessary to do Stage III type trials on experimental stations once specific problems and possible solutions have been identified on farm. There is no point in demonstrating the effect of management factors on nitrogen fixation unless they can be managed at the on-farm level.

On-farm trials should be as simple as possible and include all aspects of the technology, not just the aspect the researcher is interested in. A simple way to design the experiments is to take the farmers management and then to add different "improved" components to it in the various treatments. For example:

1. Farmer's legume-rhizobium combination  
Farmer's fertilization  
Farmer's weeding

2. Improved legume-rhizobium combination  
Farmer's fertilization  
Farmer's weeding
3. Improved legume-rhizobium combination  
Improved fertilization  
Farmer's weeding
4. Improved legume-rhizobium combination  
Improved fertilization  
Improved weeding
5. Farmer's legume-rhizobium combination  
Improved fertilization  
Improved weeding

In the Eastern Plains of Colombia an experiment of this type was carried out with different tropical forage legumes with and without inoculation. It was found that fertilizer was the most limiting factor; the farmers could not or did not wish to fertilize tropical forage legumes. Weeds and the legume-rhizobium combination were less of a problem. A second series of trials was therefore planned using a precrop of rice which is fertilized, harvested and subsequently the improved legume-rhizobium combinations are planted. In this way, the farmers might obtain a return on their investment in fertilizer in a shorter period of time, and the legume-rhizobium combination would benefit from the residual fertilizer used on the rice crop. The four new treatments were:

1. Farmer's legume-rhizobium combination  
Farmer's fertilization  
Farmer's planting time
2. Improved legume-rhizobium combination

Farmer's fertilization

Farmer's planting time

3. Rice + fertilization

Farmer's legume-rhizobium combination

Later planting time

4. Rice + fertilization

Improved legume-rhizobium combination

Later planting time

It is expected that this experiment will represent a more realistic technology from the farmers' point of view although clearly some further adaptations may be necessary.

**WORKING GROUP VI: TEAMWORK AND COMMUNICATIONS**

Rapporteurs: Stela Midlej Silva, Rolando Aguilera, Trudy Brekelbaum, Silos Gonzalez and Renato Valenzuela

It has been proposed in several international events that research networks should be formed to support work on biological nitrogen fixation. In November 1985, in a training course at Porto Alegre, Brazil, a network was formed for the evaluation, selection and agronomic management of the legume-rhizobium symbiosis in beans and tropical forage legumes. In the follow-up workshop held at CIAT in 1987, problems of communication and teamwork experienced during the practical application phase of the work carried out by the network teams were discussed. It is hoped that this discussion will help to improve the functioning of the network.

The discussion was divided into five sub-sections:

- Work teams and their formation
- Problems with teamwork and possible solutions
- Institutional support for the teams and their work
- Communications within the Network
- Others

1) Teams and their formation

Of the 36 researchers present, 31 are doing BNF research as part of a team. Those who are not members of a team are trying to cover both the microbiological and agronomic components of the work, but hope to form a team in the near future. The importance of all team members being equally interested and committed to the work was stressed. They should

have equal responsibility and should be aware that their work is complementary. Some points raised with regard to forming new teams and improving existing ones were:

- If a team is to function well, there must be a minimum of two persons equally interested and committed to the work that is to be done. They should have equal responsibility and should be aware that their work is complementary.
- Ideas for forming new teams included:
  - a) Get national institution support, as well as international support where necessary.
  - b) Employ and/or train researchers
  - c) Motivate the participation of other researchers within or outside the institution.

## 2) Teamwork

2.1) Among the difficulties encountered were the following:

- Lack of time to meet together given the institution's own priorities.
- Physical separation (distance) of the team members
- Difficulty in planning teamwork due to different priorities of the members work in their respective institutions.
- Difficulty in obtaining qualified support personnel for conducting research.
- Unequal division of responsibilities/functions among the team members.

2.2) The following solutions were proposed:

- Define the work priorities of the team members at the institutional level.
- Plan and participate together

- Explore availability of financial resources for the project.
- Make authorities with decision-making powers aware of the importance of the project.
- Train technical personnel from within or outside the institution.

3) Institutional support for teamwork/BNF

The following positive aspects were identified:

- There is institutional support for teamwork/BNF in the majority of cases.
- There are some appropriate human resources in the institutions.
- There is a desire to collaborate among the researchers presently involved.
- Some of the institutions are aware of the importance of BNF.
- There are thesis students who would like to work on this topic.
- Some countries have defined objectives with regard to the legume-rhizobium symbiosis.
- There are well-defined BNF research projects between some national programs and other institutions at both the national and international level.
- It is possible to have access to laboratory equipment belonging to other institutions by formalizing interinstitutional agreements.

The following negative aspects were identified:

- Acquisition of equipment and materials for research on the legume-rhizobium symbiosis is difficult because of importation licences and foreign exchange restrictions.



- Some institutions have assigned low priority to BNF research.
- Acquisition of materials and human resources does not flow smoothly.
- Changes in personnel directing institutional activities can have an adverse impact on BNF research.
- There have been continued budget cuts in the institutions in the countries conforming the network.
- Although each institution has the human resources, they may not be adequately trained to conduct research on BNF.
- The majority of the researchers in the network have too heavy a load of work within their institutions.
- There is a lack of incentives for researchers in many of the institutions.

#### 4) Communication within the network

Communication among the members of the network, particularly from the research groups to the central coordinating body needs to be increased. The following solutions were proposed:

- Develop a format for reporting quarterly to the coordinating body, including progress made, difficulties, scientific events related to BNF, changes in institutional administration and other aspects important to the development of the network.
- Communication via telephone has made it possible to solve problems quickly, greatly facilitating the network's activities.
- It was recommended that the members of the network be sent CIAT's Tables of Contents of scientific publications covering BNF research.

## 5) Other aspects

The audiotutorial on the legume-rhizobium symbiosis was considered to be very useful from both a practical and educational stand-point, facilitating the communication and learning processes.

DIRECCIONES DE LOS PARTICIPANTES DEL TALLER  
ADDRESSES OF WORKSHOP PARTICIPANTS

Rolando Aguilera                      Profesor Adjunto I  
Universidad de San Carlos  
Facultad de Agronomía  
Ciudad Universitaria Zona 12  
Guatemala, Guatemala

Juan Francisco Aguirre                Investigador  
Instituto Nal. de Invest.  
Forestales Agrícolas y Pecuarias  
(INIFAP)  
Apartado Postal 96  
30700, Tapachula, Chiapas  
México

Esteban Arosemena                    Investigador Pecuario  
Dirección de Inv. Agropecuaria  
de Panamá (IDIAP)  
Apartado Postal 58  
Santiago de Veragua  
Panamá

Rosemary S. Bradley                   Microbiología de Suelos  
Pastos Tropicales - CIAT  
Apartado Aéreo 6713  
Cali, Colombia

Actual:  
Convenio CIAT/IICA  
Apartado 55, 2200 Coronado  
San Jose, Costa Rica

Trudy Brekelbaum

Asistente  
Director General  
CIAT  
Apartado Aéreo 6713  
Cali, Colombia

Actual:  
Apartado Aéreo 25979  
Cali, Colombia

Reinaldo Bertola Cantarutti

Pesquisador Asistente  
CEPLAC/CEPEC/DIZOT  
km. 22 Rodovia  
Caixa Postal 07  
45.600 Itabuna, BA  
Brasil

María Inés Castellanos

Asistente de Laboratorio  
Inst. Centroamericano de Invest.  
y Tecnología Industrial (ICAITI)  
Avenida Reforma 4'47 Zona 10  
Guatemala, Guatemala

Peter Cookson

Postdoctoral  
Fijación Biológica de Nitrógeno  
CIAT  
Apartado Aéreo 6713  
Cali, Colombia

Actual:  
15 Connaught Ave.  
Burnage,  
Manchester M19 2NW  
England

- Ovidio Coto  
Profesor Auxiliar T.C.  
Universidad de El Salvador  
Facultad de Ciencias Agronómicas  
Departamento de Protección  
Vegetal  
San Salvador, El Salvador
- Martha Chaverra  
Asistente de Investigación  
Microbiología de Frijol  
CIAT - AA 6713  
Cali, Colombia
- Actual:  
University of Minnesota  
Twin Cities  
Soil Science Department  
Borlaug Hall  
1991 Upper Bufford Circle  
St. Paul Minnesota 55108  
USA
- Gaspar González Cu.  
Líder  
Programa Rizobiología  
Instituto Nal. de Inv.  
Forestales, Agrícolas y  
Pecuarias (INIFAP)  
Apartado Postal 1224  
91700 Veracruz, México
- Silos González del Aguila  
Instituto Veterinario de  
Investigaciones Tropicales y  
de Altura (IVITA)  
Apartado 245  
Pucallpa, Perú

Eduardo Granados

Asesor Estadístico  
Programa de Pastos Tropicales  
CIAT  
Apartado Aéreo 6713  
Cali, Colombia

Marcial Guzmán

Ingeniero Agrónomo  
Técnico del Programa de Frijol  
Instituto de Ciencia y Tecnología  
Agrícola (ICTA)  
Autopista a Amatitlan  
Km. 21.5 - Finca Bárcenas  
Villanueva  
Guatemala, Guatemala

Germán Hernández Córdoba

Jefe Programa de Frijol  
Consejo Nal. de Producción  
Apartado 2205  
Sabana, San José  
Costa Rica

Judy Kipe-Nolt

Microbióloga de Suelos  
Programa de Frijol  
CIAT  
Apartado Aéreo 6713  
Cali, Colombia

Joao Kolling

Ingeniero Agrónomo  
IPAGRO/MIRCEN  
Rua Gonçalves Dias 570  
90.060 Porto Alegre, RS  
Brasil

- Mirta López  
Investigador Titular  
Instituto de Ciencia Animal  
Calle 30 # 768-1  
Nuevo Vedado, La Habana  
Cuba
- Neuza Massae Asakawa  
Asociada - Microbiología de  
Pastos Tropicales  
CIAT  
Apartado Aéreo 6713  
Cali, Colombia
- Martin N. Mbewe  
Plant Breeder (Grain Legumes)  
Ministry of Agriculture and  
Water Development  
Msekera Regional Research  
Station  
P.O. Box 510089  
Chipata, Zambia
- \* Rodolfo Morales Muñoz  
Inst. de Invest. Agropecuarias  
de Panamá (La Montuna) DIVISA  
Provincia de Herrera  
República de Panamá
- Dacier Mosquera  
Asistente de Investigación  
Microbiología Pastos Tropicales  
CIAT - Apartado Aéreo 6713  
Cali, Colombia
- Gloria Isabel Ocampo  
Asistente de Investigación  
Microbiología de Frijol  
CIAT  
Apartado Aéreo 6713  
Cali, Colombia

Douglas Pachico

Lider  
Programa de Frijol  
CIAT  
Apartado Aéreo 6713  
Cali, Colombia

J. Roberto Peres

EMBRAPA/CEPAC  
BR 020 km. 18  
Caixa Postal 70/0023  
73300 Planaltina  
D.F. Brasil

Paulina Pineda

Ingeniero Agrónomo  
Profesor-Investigador  
Universidad de El Salvador  
Apartado 747  
San Salvador, El Salvador

Actual:  
Programa Regional  
CIAT-CIP  
Apartado 5969  
Lima, Perú

Elias Ramirez Levi

Técnico de Laboratorio  
Instituto Veterinario de  
Investigaciones Tropicales y de  
Altura (IVITA)  
Apartado 245  
Pucallpa, Perú



**Margarita Ramirez**

Ingeniero Agrónomo  
Programa de Suelos  
Instituto Colombiano  
Agropecuario, (ICA)  
Apartado Aéreo 151123  
Bogotá, Colombia

**César Reyes Atac**

Coordinador de Pastos Tropicales  
Instituto Veterinario de  
Investigaciones Tropicales y de  
Altura (IVITA)  
Apartado 245  
Pucallpa, Perú

**Juan Carlos Rosas**

Profesor Asociado/Fitomejorador  
Escuela Agrícola Panamericana  
Apartado Postal 93  
Tegucigalpa, Honduras

**Carmen Rosa Salamanca**

Asistente de Investigación  
Inst. Colombiano Agropecuario  
(ICA)  
Apartado Aéreo 2011  
Villavicencio, Colombia

**Gladys Sánchez**

Asistente de Investigación  
Microbiología de Suelos  
Pastos Tropicales  
Apartado Aéreo 6713  
Cali, Colombia

**Actual:**

Unidad Residencial Cañaverales  
Bloque Q - Apartamento 501  
Cali, Colombia

Pedro A. Selbach

Departamento de Solos  
Faculdade de Agronomia da  
Universidade Federal Rio Grande  
do Sul - UFRGS  
Av. Bento Goncalves, 7712  
90.000 Porto Alegre - RS  
Brasil

Stella Midlej Silva

Pesquisador Assistente  
CEPLAC/CEPEC/DIFIT  
Km 22 Rodovia  
Caixa Postal 07  
45.600 Itabuna, BA  
Brasil

Juan José Soto

Investigador  
Programa de Frijol  
Instituto de Ciencia y  
Tecnología Agrícola (ICTA)  
Autopista a Amatitlan  
Km. 21.5 - Finca Bárcenas  
Villanueva  
Guatemala, Guatemala

Miguel Tang Chiong

Jefe, Grupo de Leguminosas  
Estación Experimental de Pastos  
y Forrajes "Indio Hatuey"  
Central España Republicana  
Perico, Matanzas  
Cuba

Vilma Trujillo

Bióloga  
Program de Pastos Tropicales  
CIAT - Apartado Aéreo 6713  
Cali, Colombia

Lidieth Uribe Lorio

Microbióloga  
Centro de Investigaciones  
Agronómicas  
Universidad de Costa Rica  
Ciudad Universitaria "Rodrigo  
Facio"  
San Pedro de Montes de Oca  
Costa Rica

María Valdez

Profesor Investigador  
Escuela Nal. de Ciencias  
Biológicas  
Inst. Politécnico Nacional  
Apartado Postal 63-246  
02800 México, D.F., México

Carlos Valencia

Asistente  
Desarrollo Materiales de  
Capacitación - CIAT  
Apartado Aéreo 6713  
Cali, Colombia

Renato Valenzuela

Investigador Encargado  
del Programa de Rizobiología  
Centro de Investigación Agrícola  
Tropical  
Avenida Ejército Nacional 131  
Casilla 247  
Santa Cruz de la Sierra  
Bolivia

Herney Vargas

Asistente de Investigación  
Microbiología de Frijol  
CIAT  
Apartado Aéreo 6713  
Cali, Colombia

Pedro Zapata

Asistente de Investigación  
Fijación Biológica de Nitrógeno  
CIAT  
Apartado Aéreo 6713  
Cali, Colombia

Actual:  
Federación Nal. de Cafeteros  
Calle 8 No. 20-99  
Buga, Colombia

\* unable to attend  
no pudo asistir