

NITROGENO : FUENTES QUIMICAS Y BIOLÓGICAS EN LA FERTILIZACIÓN DEL FRIJOL

Por :
P.H. GRAHAM,
Microbiólogo de Suelos



INTRODUCCION :

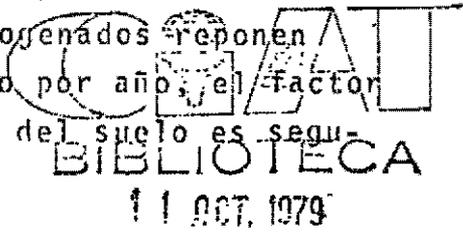
De los demás elementos necesarios para el desarrollo de cualquier planta, el nitrógeno es, hoy en día, el que más dificultades presenta en la vida de los agricultores, los científicos y hasta a los Senadores.

Su uso en el mundo varía mucho. En países como los Estados Unidos, alrededor del 2% de la energía petrolera va en la producción de úrea. El uso de nitrógeno como fertilizante es tanto, que en algunos lugares las aguas subterráneas usadas para beber, contienen cantidades excesivas y posiblemente dañinas de nitratos. Algunos estados están formulando leyes para limitar la fertilización nitrogenada. Al otro extremo, el nitrógeno es un lujo para muchos campesinos frijoleros, quienes tienen limitado su crédito y deben utilizar sus fertilizantes con mucho cuidado y eficiencia.

En estas presentaciones examinaremos algunos aspectos del ciclo de nitrógeno y la fertilización nitrogenada del frijol. No obstante concentraremos en la fijación biológica del nitrógeno.

EL CICLO DE NITROGENO Y SU RELACION AL FRIJOL:

Mundialmente los productos agropecuarios remueven cada año de 100 a 110 millones de toneladas de nitrógeno del suelo. Lixiviación y volatilización aumentan marcadamente las pérdidas de nitrógeno del suelo. Aunque los fertilizantes nitrogenados reponen algo como 40 millones de toneladas de nitrógeno por año, el factor más importante en la conservación de nitrógeno del suelo es segu-



ramente la fijación de nitrógeno. Aunque los valores atribuidos a la fijación varían mucho, las cifras más recientes, sugieren niveles de fijación hasta 175×10^6 toneladas de N_2 fijado por año.

No son iguales en todos los suelos las salidas y entradas de nitrógeno, existen muchos suelos del mundo deficientes en nitrógeno, estas deficiencias siendo más comunes en suelos arenosos o en suelos ácidos, donde la descomposición de materia orgánica es frecuentemente retardada. Suelos deficientes en nitrógeno son frecuentes en América Latina, Fassbender y otros, notando que aproximadamente 75% de los suelos de América Central que ellos estudiaron fueron deficientes en tal elemento. Malavolta (1972) revisó ensayos efectuados con frijol en 8 estados de Brazil y reportó respuesta a la fertilización nitrogenada en aproximadamente 30% de ellos.

Al otro lado y dado su alto porcentaje de proteínas, no es sorprendente que el frijol necesite mucho nitrógeno. Si suponemos un rendimiento de 2000 kg/ha, y un porcentaje de proteínas en las semillas de 24%, el cultivo tomará por lo menos 80 kg/ N/ha/ciclo de crecimiento del suelo. Estudios de Cobra Netto et al en Brasil, sugirieron que la variedad Roxinho absorbió hasta 101 kg. N/ciclo. Cuando el frijol no tiene nitrógeno suficiente, muestra síntomas de su deficiencia. Generalmente ellas son de un amarillamiento en las hojas (especialmente las hojas inferiores) con el desarrollo de la planta muy limitada. El amarillamiento de la hoja es normalmente uniforme. Mientras que las hojas sanas contienen aproximadamente 5% de nitrógeno, en hojas deficientes pueden bajar el contenido de N hasta el 3% o menos. Carvajal (1974) demostró que el contenido de N en los peciolo es un buen indicador de la deficiencia de nitrógeno y postuló un nivel crítico de 300 ppm de N total.

LA FERTILIZACION NITROGENADA DE LOS FRIJOLES :

Aunque la buena fertilización nitrogenada demanda en mis ojos, la consideración de varios factores, la mayoría de los estudios efectuados hasta el momento, muestran poco de originalidad. Ni se consideran las necesidades de la planta, las capacidades de absorción de las raíces y hojas, las pérdidas de NO_3 del suelo, el ciclo de crecimiento, ni cómo combinar la fertilización nitrogenada con la fijación de nitrógeno.

Talvez estos ensayos podrían ser sumados así:

- 1.- Que no existen realmente mucha diferencia entre $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaNO_3 o Urea, como fuentes de N.
- 2.- Que en la mayoría de los casos la época de aplicación no influya mucho en la respuesta.
- 3.- Que las necesidades del frijol para nitrógeno químico, varían entre 40 y 120 kg N/ha/ciclo de crecimiento, llegando hasta 200 kg k/ha en casos excepcionales.

Como consecuencia de estos estudios es normal tomar análisis del suelo y basar niveles de fertilización en el, aplicando todo el fertilizante en un solo golpe antes de la siembra. En estudios efectuados en Brazil usando sistemas semejantes, solamente el 26% del fertilizante nitrogenado suministrado, fué usado por la planta, siendo poco eficiente la fertilización.

Como microbiólogo me gustaría sugerir que quedan muchos factores para ser investigados. Por ejemplo, consideran ustedes el ciclo de crecimiento del frijol? (Figura 1). Al momento de ser sembrada la semilla de frijol contiene entre 6 y 20 mgms de nitrógeno. Inicialmente, la planta puede conseguir parte de sus necesidades de los cotiledones, pero alrededor de los 14-20 días, y si no recibe fertilización, mostrará sus primeros síntomas de deficiencia. Al mismo tiempo se están iniciando los nódulos, un proceso fácilmente dañado por exceso de nitrógeno. En que los nódulos mismos no fijan bien hasta los 30 días aproximadamente, este tiempo es

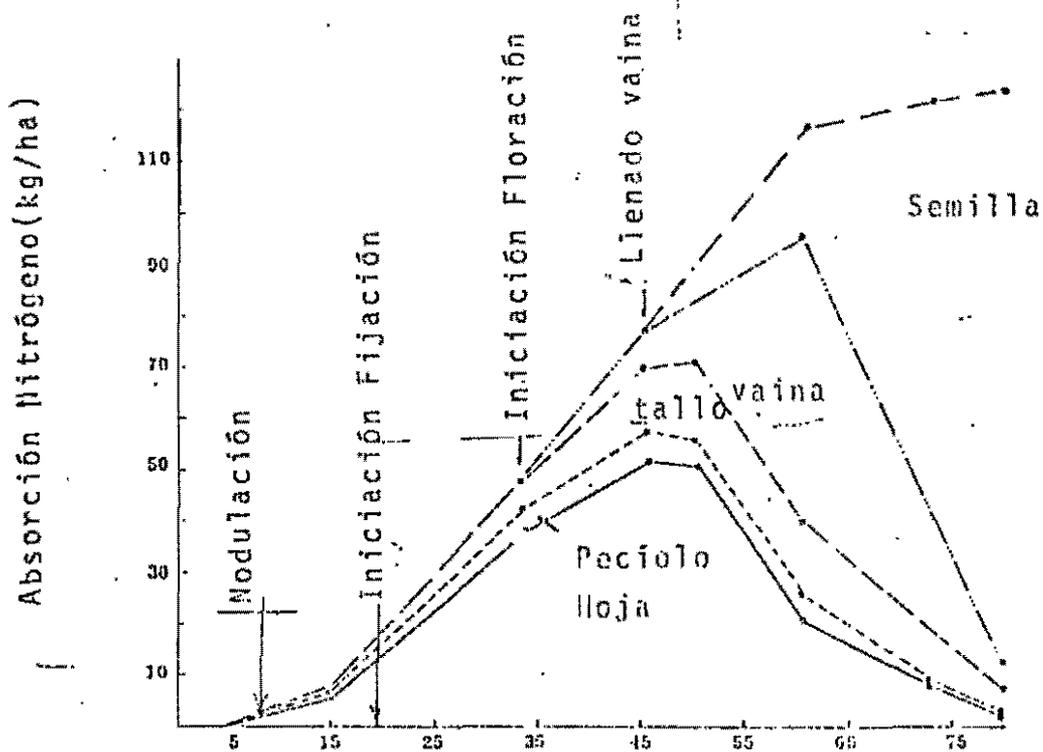


Fig.1 : Absorción de nitrógeno por la variedad Porrillo Sintético, durante su ciclo de crecimiento. Obsérvese el alto porcentaje de N absorbido después de la floración y las pérdidas de N que sufren las hojas y la pared de las vainas durante el llenado de grano (Según Ceballos, Laing y Fernández, en prensa).

comúnmente un déficit de nitrógeno en la planta, con la necesidad de suministrarle químicamente lo que le falte, o por lo menos, estudiar lo que implique este déficit al rendimiento final. Discutiremos después, la idea de dosis "starter" de nitrógeno. Desde los treinta (30) días hasta más o menos cincuenta (50), las necesidades de la planta aumentarán casi linealmente, Haag (1967) muestra que la absorción máxima de nitrógeno ocurre a los 56 días. No tenemos datos equivalentes con el frijol, pero en la soya, la fijación de nitrógeno puede satisfacer entre 25 y 75% de esta demanda. Con la formación de vainas, mucho del nitrógeno de la planta, pasa a las semillas, causando así disminución en la actividad fotosintética de las hojas y eventualmente produce su caída. Este fenómeno se ha llamado " mecanismo de suicidio". De todos modos, en la cosecha, casi el 90% del nitrógeno de la planta, se encuentra en las semillas. La llenada de las vainas es otro tiempo de posible deficiencia de nitrógeno en la planta, porque con la disminución de fotosíntesis después de la floración, la fijación del nitrógeno, normalmente baja. Recientemente García y Hanway (1975) generaron mucho entusiasmo sugiriendo que la fertilización foliar en este tiempo les dió muy buenos aumentos en rendimiento. Desafortunadamente casi ninguno de más de los 100 estudios efectuados después, varios de ellos con frijol, han tenido éxito. Es una área que merece un análisis.

FIJACION DE NITROGENO :

Llegamos ya a la microbiología del suelo y es una area compleja y todavía con muchas áreas para ser estudiadas. Yo me concentraré en la fijación de nitrógeno, pero con más tiempo, podríamos hablar también de los cambios efectuados por los microbios a los distintos productos nitrogenados o de productos como N-Serve, que intentan minimizar las pérdidas de nitrógeno del suelo, causados por microbios.

Yo sugerí anteriormente una cifra de 175 millones de toneladas fijadas anualmente en el mundo. Este no viene exclusivamente de la asociación entre Rhizobium y las demás leguminosas. Seguramente la fijación simbiótica por Rhizobium y leguminosas, es la más conocida y estudiada, y por hectárea, la que suministra cifras más altas, pero los microbios del suelo y mar, también contribuyen bastante.

Hasta el momento todos los fijadores de nitrógeno pertenecen a las bacterias y algas azules. Ellos pueden ser no simbióticos o asociados en varios grados con plantas como Azolla, Alnus y Myrica. Los microbios no simbióticos en el suelo normalmente fijan entre 10 y 15 kg/ha/año; según las condiciones ambientales las plantas como Alnus fijan mucho más, pero no pueden ser muy comercializado. Fijación por la asociación Rhizobium - leguminosa, puede llegar a más que 200 kg N₂ fijado/ha/año pero en promedio probablemente, alcanzan 100 kg N₂ fijado/ha/año.

Antes de empezar con la fijación de nitrógeno por P. vulgaris quiero mencionar brevemente la asociación raíz-Spirillum, estudiado primero por el Dr. Dobereiner en Brazil y posiblemente de mucha importancia en cultivos asociados para el futuro. Quiero intentar aclarar la situación con esta asociación, que en el momento es una area de mucha confusión. Cuando empezó el estudio de fijación de nitrógeno por plantas como el maíz, la Dra. Dobereiner consiguió cifras de fijación, casi tan buenas como las de las leguminosas. Al principio, ella utilizó una técnica de "preincubación" dejando las raíces 24 horas antes de medir la fijación. Ya es conocido que esta incubación permitió la multiplicación de los microbios fijadores en la raíz y por ser ellos tan numerosos, dieron cifras demasiado elevadas. Aunque esta clarificación causó una caída en la expectativa, es todavía cierto que la asociación raíz-Spirillum, fija nitrógeno y que en las plantas de metabolismo C₄ pueden alcanzar niveles apreciables.

Pasamos ya a la fijación de nitrógeno en Phaseolus. Debo añadir que cuando dicté este tema por primera vez hace dos años, no pude usar muchos ejemplos de frijol, sino que tuve que ilustrar mis comentarios con ejemplos de otras leguminosas de grano. Gracias a preguntas y comentarios de varios becarios en tal curso y después, hemos llenado muchos de los huecos que existieron. No obstante, yo apreciaría recibir cualquier sugerencia que acerque nuestro Programa con sus necesidades.

Para que ustedes entiendan mejor las normas y los problemas de la nodulación y fijación de nitrógeno por el frijol, tengo primero que explicarles dos cosas:

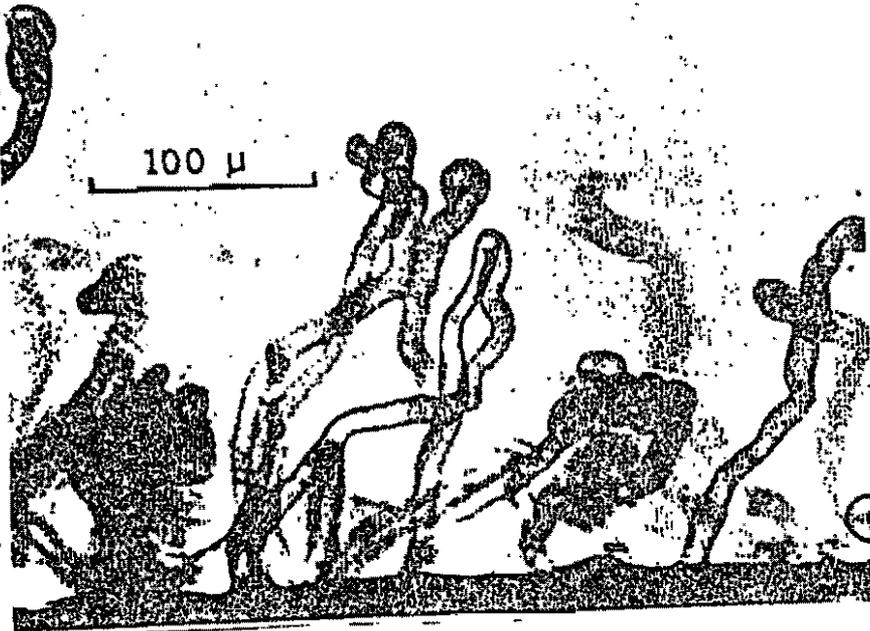
- a. la secuencia por la cual el rhizobio ^{penetra} ~~entra~~ a la planta, causa formación de nódulos y empieza a fijar.
- b. la técnica de reducción de acetileno, por medio de la cual podemos estimar niveles de fijación en el campo.

a) Mecanismo de la formación de nódulos:

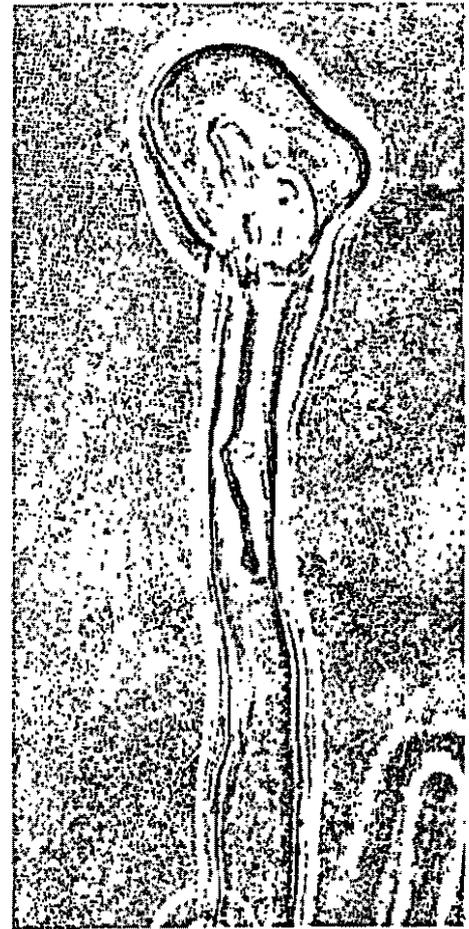
La nodulación empieza cuando una adecuada cepa de R. phaseoli encuentra un sistema radicular de frijol. El R. phaseoli se multiplica, produce cantidades de ácido indol acético (AIA) y otras sustancias aún no identificadas pero que son muy específicas. Enseguida se produce la deformación y encrespamiento de los pelos radicales (Figura 2.1)

Los pelos radicales se invaginan en su porción apical, lo que permite que algunos rhizobios pasen a través de esta sección invaginada.

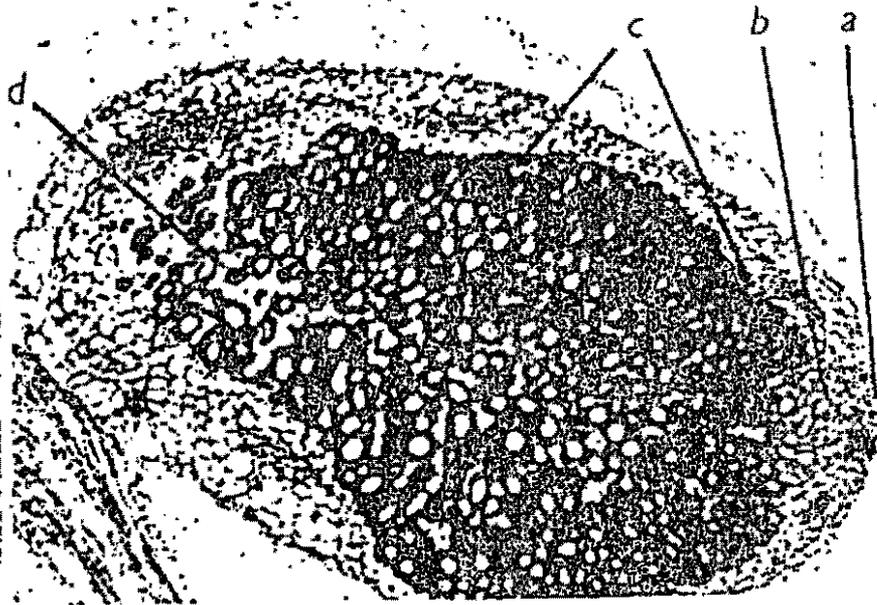
Un hilo de infección se forma la planta, y los rhizobios que se encuentran en su interior, se movilizan hacia la parte basal del pelo radical, penetrando a la corteza de la planta (Figura 2.2). Cuando el hilo de infección encuentra células tetraploides, se inicia su ruptura y los rhizobios, aún cubiertos por un mucílago, son liberados dentro del citoplasma celular. Empiezan a multiplicarse, y el AIA producido, causa



(1)



(2)



(3)

FIG. 2. ETAPAS EN LA NODULACION DE UNA LEGUMINOSA.
PARA DISCUSION VER EL TEXTO.

la multiplicación de las células tetraploides y de las diploides alrededor de ellas. Esta multiplicación conduce a la estructura llamada "nódulo". Cuando son liberados dentro de las células, los rhizobios aún son de forma bacilar. Ellos rápidamente pierden esta apariencia cilíndrica y se vuelven bacteroides, y en esta forma inician la fijación de N_2 .

En su forma funcional el nódulo consiste (Figura 2.3) de una zona meristemática (a) no infestada con bacterias; una zona (b) donde las células son infestadas con Rhizobium pero con pocos rhizobios por célula y ellos todavía como bacilos; una zona (c) en la cual están llenos de microbios, principalmente bacteroides, y una zona de degeneración (d). Es la zona de los bacteroides, ya colorado con leghemoglobina en la cual ocurre la fijación. Por tal razón puede usar el color de los nódulos, estimar si están fijando mucho nitrógeno o no.

Es importante conocer el proceso porque luego facilitará su entendimiento de los factores que sirven para interrumpir la nodulación o fijación de nitrógeno.

n) Prueba de reducción de Acetileno:

Antes del año 1966 quienes estudiaron la fijación del nitrógeno tuvieron mucha dificultad en estimar niveles de fijación. Podrían usar la técnica de Kjeldahl que es muy insensitiva o el N^{15} medido por espectrometría de masas que era bastante precisa, pero que presentó dificultades en experimentación y uso de instrumentos muy costosos. En 1966, dos estudios independientes mostraron que la enzima nitrogenasa que causa la fijación de nitrógeno, no es muy específica, pero que podría reducir varias sustancias, entre ellas acetileno. Luego se probó que si nódulos o raíces noduladas, fueran incubadas en un ambiente con aproximadamente 10% de acetileno, será producido etileno y que la cantidad producido, varía con el tiempo de incubación y la actividad y cantidad de la nitrogenasa dentro de los nódulos. Además que podría medir fácilmente este etileno por la técnica

no tan costosa de cromatografía de gases. Esta técnica probó ser quizá millones de veces más sensitivos que la de los Kjeldahls, permitiendo ensayos como por ejemplo influencia de la temperatura del día en la fijación, etc., que anteriormente fueron imposible. Tiene que conocer los límites de la técnica, pero dentro de sus límites ha sido una técnica sumamente útil.

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA NODULACION Y LA FIJACION DEL NITROGENO EN EL FRIJOL :

En el momento, en América Latina la inoculación del frijol está en flujo. Aunque talvez 60% de los estudios efectuados hasta el momento, no han dado respuesta a la inoculación, y aunque (en contraste a lo que está ocurriendo con soya) pocos agricultores, están intentando usar esta técnica con sus frijoles, en número de estudios relacionados con la inoculación de frijol, está aumentando enormemente. Ya se han mostrado un rango de factores ambientales y genéticas que podrían haber contribuido a los malos resultados de los antiguos ensayos y ya existe una promesa de lograr mejores resultados en el futuro. Quiero dedicar el resto de mi tiempo a la discusión de estos problemas, que influyen tanto en la nodulación y fijación de nitrógeno en frijol, entre ellos:

- a) Presencia o suministro de un rhizobio apropiado
- b)! Especificidad entre Rhizobium y hospedero
- c) La acidez del suelo
- d) La temperatura del suelo
- e) Factores nutricionales
- f) Competencia entre Rhizobium en el inoculante y en el suelo
- g) Uso de productos tóxicos
- h) Factores culturales

A. Presencia o suministro de un rhizobio apropiado:

Es fácil decir, como en la sección sobre el mecanismo de la nodulación, que la nodulación empieza cuando una célula de Rhizobium se encuentra en contacto con la raíz de su hospedera apropiada.

Es mucho más difícil lograrlo. En primer lugar, como será discutido más tarde, existen algunas especificidades entre Rhizobium y leguminosas. Más importante aún, es raro encontrar en un suelo siendo cultivado por primera vez con una leguminosa particular, el Rhizobium apropiado ya existente en el suelo. En Popayán por ejemplo, si no adicionamos un Rhizobium para el frijol al suelo, encontramos normalmente sólo un nódulo por planta; este comparado con el óptimo de tal vez 200 a 300 nódulos/planta. En años siguientes la nodulación aumentaría un poquito cada siembra con focos de buena nodulación, y en tal vez 5 años quedaría adecuada. Esto fué lo que pasó con la cultivación de soya en el Valle del Cauca. Mientras tanto las plantas sin nodulación adecuada, mostrarían una deficiencia de nitrógeno y el agricultor no realizará más que 50-60% de su rendimiento potencial.

Suministrar el inoculante necesario cuesta trabajo. Implica en primer lugar el estudio comparativo de varias cepas y la selección de una eficiente en fijación de nitrógeno con la planta ser inoculado. En que los microbios sobreviven poco tiempo en su medio líquido de cultivo, implica también la obtención y prueba de un portador. Muchos materiales han sido usados incluyendo la turba, el carbón y la cachaza, pero no son todos de igual valor. Lo que ha resultado bien en casi todos los casos ha sido la turba o carbón finamente molido y neutralizado con carbonato de calcio. Normalmente en tal mezcla el Rhizobium sobrevivirá en número apreciables hasta seis meses, razón por lo cual es normal poner una fecha de vencimiento. Es una lástima que la mayoría de los países latinoamericanos todavía no cuenten con buenos inoculantes y deban ser usados productos inferiores o importados.

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

1. Asegurar que el inoculante sea realmente para el frijol y no para otro cultivo con su nombre común similar. Por ejemplo no se puede utilizar con el Phaseolus vulgaris los inoculantes para frijol de costa (Caupí) frijol de arroz (Vigna) o frijol del noreste (Stylosanthes) .
2. Chequear que no haya pasado la fecha de su vencimiento del inoculante.
3. Guardar el inoculante en un lugar fresco, aunque no necesariamente en un refrigerador; nunca dejarlo en el sol.
4. Preparar solamente la semilla inoculada que se puede utilizar en un solo día. Una vez mezclado con la semilla en un ambiente seco, los microbios tienden a morir.
5. Usar la dosis recomendada asegurando así que cada semilla reciba alrededor de 3.000 rhizobia.
6. Prevenir contacto entre inoculante y fungicida o productos ácidos.
- B. Especificidad entre Rhizobium y hospedero

Especificidad entre Rhizobium y cierta leguminosa puede existir en dos niveles. Cuando de dos cepas de Rhizobium solamente un nódulo cierta leguminosa, se puede hablar de diferencias en infectividad. Cuando ambos forman nódulos pero la fijación en uno de la simbioses es mejor que en el otro, se habla de diferencias en efectividad. En la simbiosis Rhizobium-Phaseolus existen especificidad de ambos tipos. En primer lugar las especies de Phaseolus no todos nodulan con el mismo rhizobio. P. vulgaris y P. coccineus nodulan con cepas de crecimiento rápido, mientras que P. lunatus y P. acutifolius necesitan una cepa que tiene desarrollo muy lento en medios normales de crecimiento. Hemos encontrado recientemente que ciertos cultivos de P. coccineus no nodulan con cepas que sirven para P. vulgaris pero que sí necesitan otras. Es claro también que para cada variedad de frijol no todas las cepas de Rhizobium tienen el mismo nivel de efectividad.

Estos dos tipos de especificidad exigen que cada laboratorio preparando inoculantes para leguminosas de importancia regional, tiene que mantener por lo menos 20 cepas e inoculantes distintos. Nosotros tenemos más que mil cepas y estamos siempre intentando escoger entre ellos mejorar tazas de fijación.

Hace 20 años fué asumido que la cepa controló la fijación de nitrógeno y que la planta tuvo poco que hacer con ella. Ya se ha demostrado por lo menos 11 genes del hospedero influyendo la fijación. Ellos controlan factores tan diversos como la multiplicación del rhizobio en la rizósfera y el suministro de energía para el desarrollo de los nódulos.

Dentro de las especies P. vulgaris, hemos estudiado hasta 600 cultivares, mostrando entre ellos grandes diferencias en capacidad de fijar nitrógeno. Algunos han sido comparados en detalle utilizando la técnica de reducción de acetileno estimar fijación y tomando datos sobre medidas de crecimiento, % de nitrógeno, etc. La figura 3 demuestra diferencias en fijación entre cultivares de distintos hábitos de crecimiento. Como pueden ver el cultivo determinado P635 casi no fija, mientras que los envoltentes P590 y P717 fijan hasta 15 veces más. Niveles de fijación de P590 en este ensayo correspondieron a más que 40 kg N/ha/ciclo un poco menos de lo que sugerí antes sería necesario satisfacer las demandas de nitrógeno en un cultivar rindiendo 2 toneladas/ha.

Ya hemos efectuado tales ensayos en 3-4 semestres y siempre quedamos con el mismo resultado: las envoltentes fijan mejor. Ya podemos sugerir tres posibles razones:

- i) Las envoltentes dan más energía a los nódulos. Aunque téoricamente la fijación de nitrógeno no requiere energía, estudios con enriquecimiento de $C_{14}O_2$, sombra, luz adicional y poda de vainas, han mostrado que la fijación depende de una fuente adecuada de energía. Se ha sugerido que cada mm de nitrógeno fijado demande entre 3.2 - 18.0 mgms de carbohidrato. Lo interesante es que

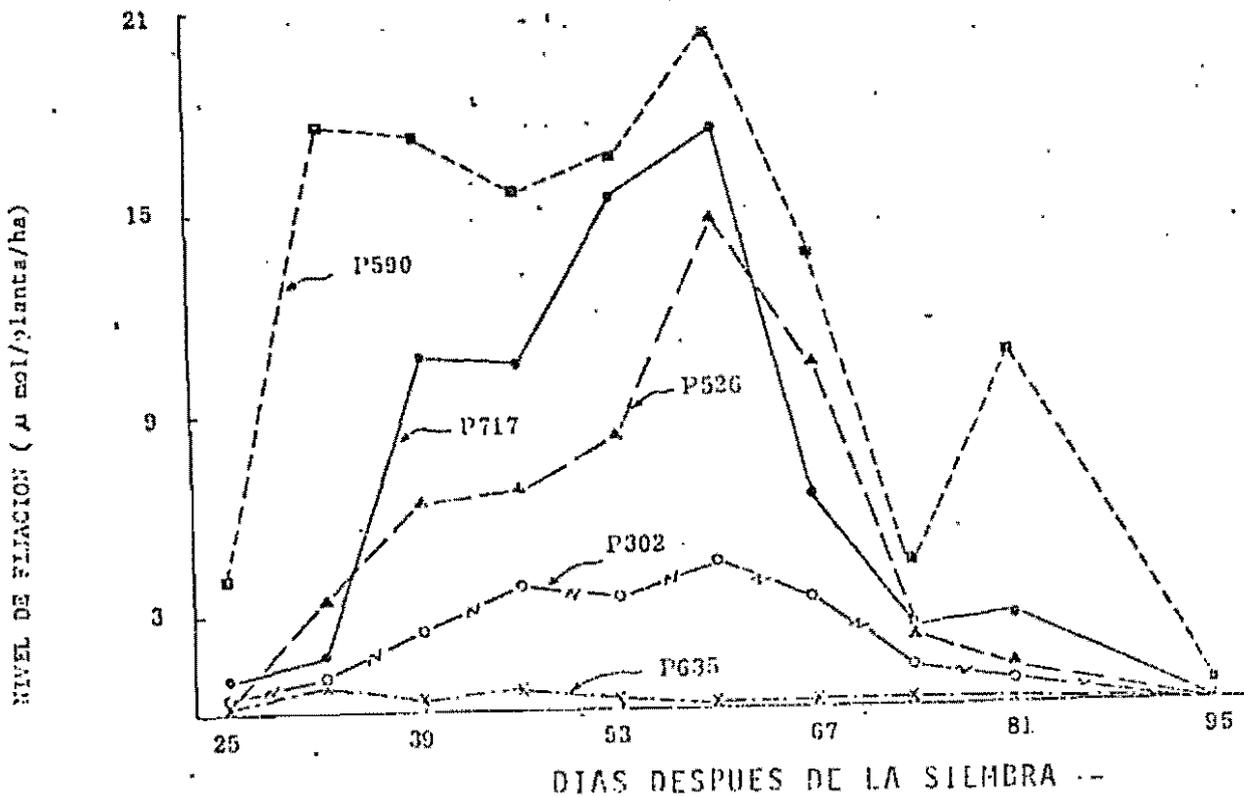


FIG. 3. NIVELES DE FIJACION DE NITROGENO EN 5 CULTIVARES DE PISUM SATIVUM COMO FUNCION DEL ESTADO.

el porcentaje de los carbohidratos totales disponible a los nódulos es mejor en los envoltentes que en los demás, hasta 5% de los carbohidratos totales de ellos, siendo recubiertos en los nódulos. También hemos notado diferencias en patron de carbohidratos entre cultivares. Los arbustivos tienden a almacenar gran parte de su carbohidrato como almidón, una forma poco disponible, y concentrarlo en el tallo y raíz. En cambio los volubies mantendrán alto porcentaje de su carbohidrato en una forma disponible.

- ii) Variedades más tardías tienden fijar más nitrógeno. Esta ya fué probado con soya hace 5-6 años, pero también lo demostraremos con el frijol usando la sensibilidad a fotoperíodo de Porriño sintético. En días cortos, esta variedad florece en 33 días, en días largos (pero sin cambiar significativamente, la energía recibida por la planta,) florece en 39 días. Con esta demora en floración, doblan ambos el rendimiento y la tasa de fijación de nitrógeno. En este ensayo la fijación alcanza niveles muy superiores a los reportados antes. Este resultado, creo yo, se debe al tiempo adicional que tiene la planta sin competencia para energía entre nódulos y vainas.
- iii) Encontramos en algunos ensayos también, que los cultivares arbustivos absorben más nitrógeno del suelo en el período antes de la iniciación de la fijación. Ha sido demostrado, que cantidades mayores de nitrógeno combinado en la planta, disminuyeron el suministro de carbohidratos a los nódulos. Talves esta diferencia refleja los años y años de selección por los agricultores bajo condiciones de fertilización con nitrógeno.

Con tantas indicaciones de diferencias entre cultivares, estamos ya empezando programas de mejoramiento de frijol en su capacidad de fijar nitrógeno. No tenemos muchos antecedentes. Hasta el momento los mejoradores no han dado mejor consideración a la fijación del nitrógeno. En realidad sus únicos hechos han sido producir variedades con problemas en nodulación o fijación de nitrógeno.

16
ie) Las variedades de soya (Lee y Hardee).

Es muy reciente que han empezado estudios sobre la genética de fijación pero en alfalfa y trébol, si se han reportado aumentos en tasas de la fijación después de hibridización.

C. Acidez :

Las condiciones de acidez en el suelo tienden a limitar no solamente la nodulación sino también la sobrevivencia de las cepas inoculadas. Como principio puede esperarse problemas en la nodulación del frijol cuando el pH se acerca a pH 5.2. Frecuentemente el efecto de pH se complica por el aumento que puede ocurrir en niveles de Al o Mn, también por deficiencias de molybdeno.

Una manera de limitar este problema es revestir la semilla inoculada con CaCO_3 o roca fosfórica, creando así un microclima alrededor de la semilla que no es ácida. Normalmente se mezcla el inoculante en una suspensión de goma arábiga, 40% en agua, se mezcla con las semillas que van a ser inoculadas y cuando todos están bien mojados, se envuelve en CaCO_3 de 100 mallas. No se puede usar escorias tomas ni superfosfato como polvo de revestimiento.

Una mejor evaluación de las cepas usadas también pueden ayudar en el control de la acidez. En Lucaena por ejemplo unas cepas son menos sensibles que otras y en Pisum es posible escoger combinaciones de hospedero y Rhizobium que soporten mejor la acidez. Estamos ya adelantando trabajos de este tipo con el frijol.

D. Influencia de la Temperatura:

La temperatura influye no solamente en la nodulación y fijación del nitrógeno, sino también en la sobrevivencia de los rhizobios en el suelo.

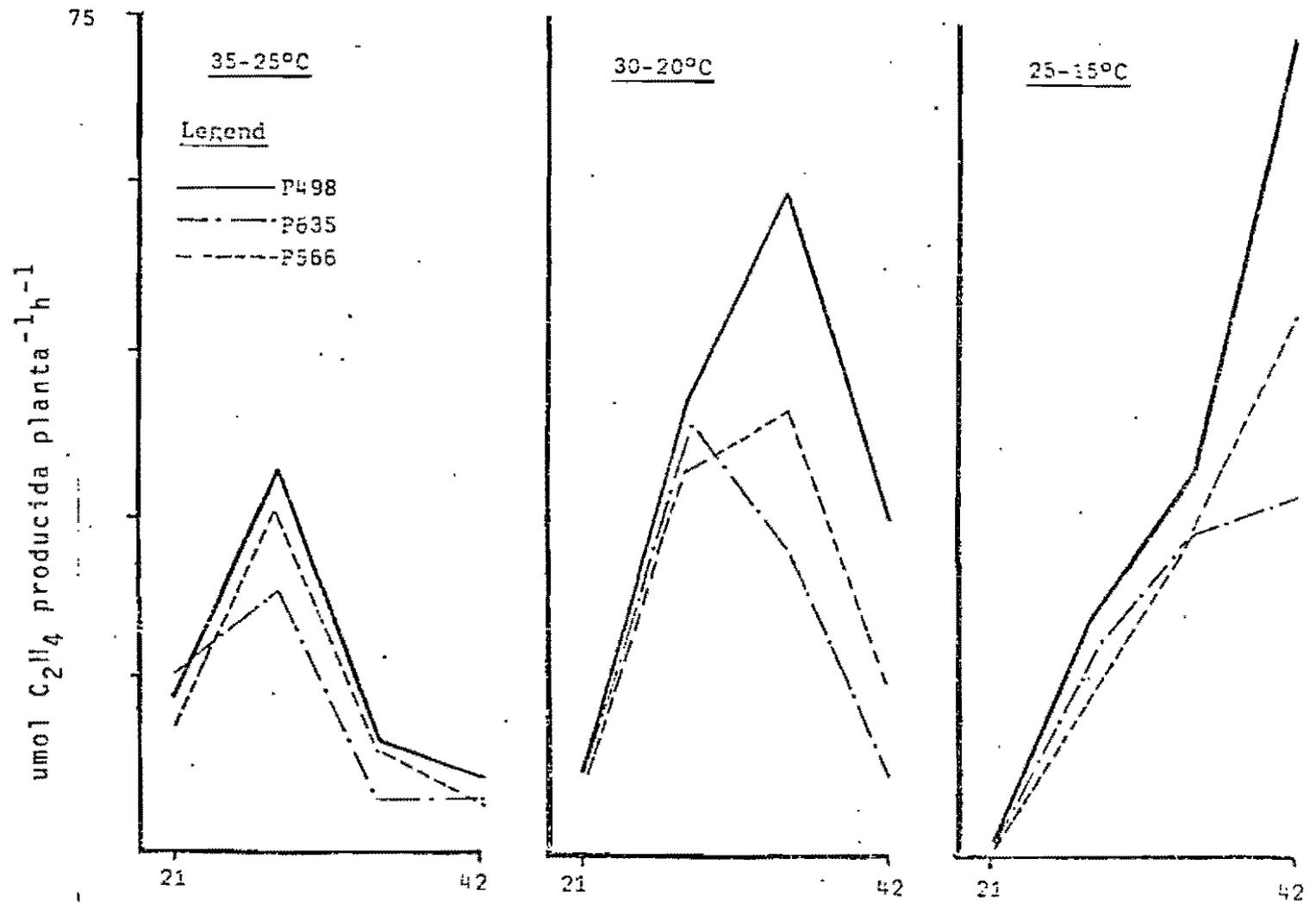


Figura 4 :
 FIJACION DE NITROGENO (C₂H₂) EN 3 CULTIVARES DE *P. vulgaris*
 Y LA INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA DIURNA Y NOCTURNA.

12

No obstante tiene que ser muy cuidadoso en su interpretación del dato disponible. Muchos de los estudios efectuados han usado técnicas poco aplicables al campo; por ejemplo, utilizaron raíces o nódulos aislados y temperaturas constantes.

En el caso de P. vulgaris la nodulación ha sido reportada de temperaturas tan altas como 35°C y tan bajas como 15°C. Modulan los fríjoles más o menos bien en Pasto con temperatura promedio de 12.7. Los nódulos tienden a formar más rápidamente a las temperaturas altas, probablemente con el óptimo en el rango de temperaturas promedio de 25 o 30°C. Si comparamos perfiles de fijación (Figura 4) podemos ver algunos de los efectos de la temperatura. Observar que el nivel máximo de fijación se alcanzó en el tratamiento 25-15°C, pero que ésta máxima se logró a la cosecha de 42 días, mientras que con temperaturas altas, la fijación máxima se logró a los 28-35 días. Como consecuencia las plantas sometidas a 25-15°C tuvieron que sobrevivir un período prolongado de déficit de N. Estamos sugiriendo que no estaría mal darles una dosis mínima de fertilizante nitrogenado en este tiempo.

Con diferencias en temperatura también deben tener en cuenta diferencias entre cepas. Por ejemplo, cuando comparemos las cepas CIAT 57 y CIAT 632 a temperaturas de 35°- 25°C y 30-20°C, temperatura día-noche, ambas fijaron mejor a las 30°- 20°C, pero mientras que la CIAT 57 bajó en fijación de 28.14 a 19.62 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4$ producida/planta/h., la CIAT 632 bajó de 17.88 a 0.92 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4$ producida/planta/h.

La sobrevivencia de Rhizobium en el suelo bajo temperaturas altas dependen en el tipo de suelo (y especialmente su contenido de arcilla), la duración de las temperaturas elevadas y la cepa en uso. No existe ninguna indicación hasta el momento de que el Rhizobium pueda tener endosporos. Empacada en turba la cepa tiene que enfrentar transporte en malas condiciones; almacenamiento bajo condiciones calientes en tienda o casa del agricultor ; y luego en condiciones talves no favorables en el suelo.

E. Factores Nutricionales :

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

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

Fósforo y azufre son necesarios principalmente en el suministro de energía al nódulo, y en su ausencia los nódulos se mantienen pequeños y no fijan. Como comenté al principio, el fósforo, tiende a ser muy deficiente en los suelos de América Latina, y puede ser un factor muy importante en la falla de muchas pruebas de inoculantes.

En 1977 comparamos 30 variedades de frijol a varios niveles de fósforo de 0-315 kg P_2O_5 suministrado por hectárea. Sobre este rango el peso de los nódulos por planta aumentó 9 veces, la parte de la planta que más respondió. La concentración de P (%) en los nódulos, también se aumentó de 0.19 a 0.27%, el aumento fué altamente correlacionado con el suministro de CHO'S a los nódulos. Como consecuencia de la fertilización fosforada, la tasa de fijación se aumentó 18 veces. Recientemente han sido hechos muchos estudios con el fin de identificar líneas de frijol tolerantes a condiciones limitadas en fósforo. La justificación de ellos fué conservar fuentes escasas y costosas de fertilizantes. Dada la deficiencia frecuente del nitrógeno en los suelos de América Latina y los problemas con el suministro de fertilizantes nitrogenados, estos no cumplen con sus responsabilidades hasta que tomen en cuenta las necesidades de P para la fijación del nitrógeno.

El molibdeno es un componente de la enzima nitrogenasa y entonces es indispensable a la fijación de nitrógeno. Molibdeno tiene la tendencia a ser menos disponible en suelos ácidos, su deficiencia siendo de mucha importancia en Brazil. La cantidad de molibdeno que necesita por hectárea es alrededor de 4 onzas.

Varios científicos han incorporado este microelemento en polvo de recubrimiento de la semilla. Esta es una práctica peligrosa porque las sales que contienen Mo varían muchísimo en su toxicidad al Rhizobium y pueden causar una falla en la nodulación.

Yo he comentado antes las condiciones bajo las cuales, considero que sería válido pensar en adicionar fertilizante nitrogenado, siendo ellos : 1) a la siembra en zonas frías donde por cuestión de temperatura, la fijación demora mucho. 2) Con variedades arbustivas determinadas 3) después de la floración por vía foliar. Merecen investigarse más.

F. Competencia entre Inoculante y Cepas nativas del suelo :

Una vez establecido en un suelo de pH razonable, las rhizobias son capaces de una existencia saprofítica y sobrevivirán varios años, aún sin la presencia de su hospedera. Cuando estas cepas nativas del suelo tienen alto grado de efectividad con la leguminosa sembrada, no existe realmente un problema. El problema viene cuando no son eficientes estas cepas nativas con el frijol sembrado, siendo aún capaces de formar nódulos. En que el número de nódulos posibles en un sistema radicular es más o menos constante (y controlado por el número de células disomáticas de la raíz) cada nódulo formado por las cepas nativas del suelo limitará aún más el número formado por el inoculante eficiente.

Este es problema realmente muy grave en todas las zonas tradicionales para el cultivo de frijol. Tenemos datos concretos de México, Brazil y Colombia. En el Carmen (Antioquia) números de Rhizobium en el suelo pueden alcanzar más que 50,000/gramo. Aunque en el momento no parece tener solución sencilla, dos vías quedan disponibles para los investigadores:

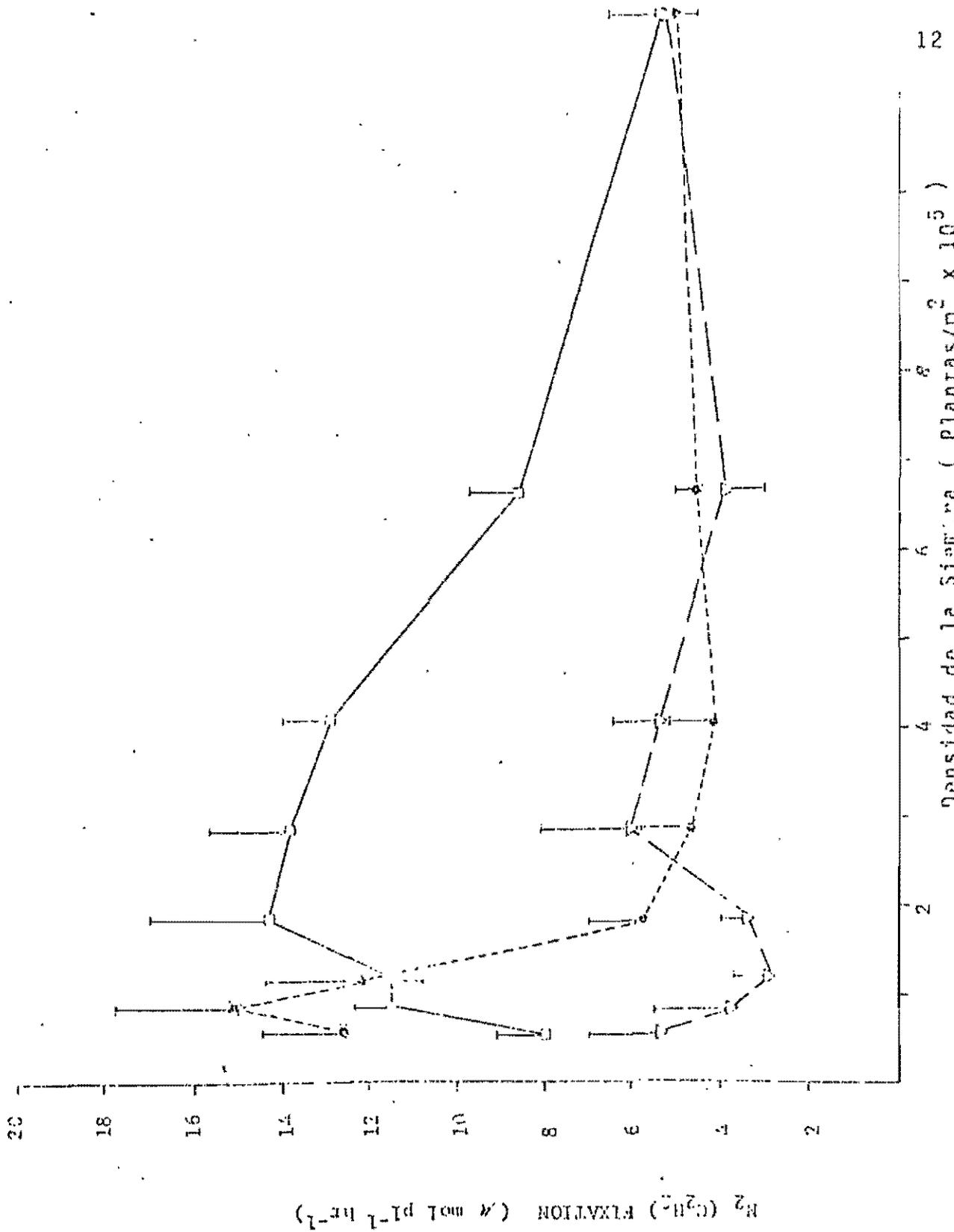


Fig. 5.

Niveles de fijación en tres cultivares de Phaseolus vulgaris. Como funciona la densidad de la siembra.

- a.) Escoger cepas muy competidoras
- b.) Desarrollar cepas mutantes con resistencia a ciertos fungicidas. Aplicada a la semilla en la presencia del fungicida, ellos sobreviven y nodulan el frijol, mientras que las cepas nativas mueren.

G. Productos Agropecuarios y Agentes tóxicos :

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

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

Cuando, por problemas de almacenamiento o por ataques serios de putrefacción de raíz es necesario tratar la semilla o el suelo con fungicida, intenta minimizar el tiempo de contacto entre fungicida e inoculante. PCNB (Terracoat) y Thiram son menos tóxicos a los rhizobios que los demás.

II. Factores Culturales :

Los sistemas culturales en el cultivo de frijol han sido poco estudiados por su impacto sobre la fijación de nitrógeno. No quiero gastar mucho tiempo en ellas, si nó, mencionar dos ejemplos que hemos estudiado.

La Figura 5 muestra la respuesta de tres variedades de frijol a la densidad de siembra. Como pueden ver el P590 (Tipo IV) tiene respuesta muy marcada a la densidad mientras que en el P498 la respuesta es inferior.

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

BIBLIOGRAFIA GENERAL

GRAHAM, P.H., & HALLIDAY, J., 1977 Inoculation and nitrogen fixation in genus Phaseolus in "Exploiting the legume Rhizobium symbiosis in tropical agriculture". University of Hawaii, Maui.

VINCENT, J.M., 1974 Root nodule symbiosis with Rhizobium in "The biology of nitrogen fixation A. Quispel Ed. North. Holland Publishing Co. pp. 265-341.

VINCENT, J.M., 1970 Manual práctico de rizobiología Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, 200 pp.