

# Influencia de la fertilización fosfórica en el crecimiento y en el contenido de nitrógeno de cuatro especies de leguminosas forrajeras inoculadas con *Rhizobium*<sup>1</sup>

Marcos Correa C.<sup>2</sup>  
Raúl Zemelman Z.<sup>3</sup>  
Luis Longeri S.<sup>4</sup>

## INTRODUCCION

El nitrógeno y fósforo son nutrientes indispensables para las plantas, que lo extraen del suelo de acuerdo a la disponibilidad que de ellos exista en forma asimilable. El nitrógeno es la base del material protéico y el fósforo participa en la acumulación y liberación de energía durante el metabolismo celular (Alexander 1961; Wallace, 1961).

Una de las formas de aporte de nitrógeno a un sistema suelo-planta lo constituye la fijación simbiótica del nitrógeno atmosférico, que ocurre en plantas leguminosas en asociación con bacterias del género *Rhizobium*.

En nuestro país, el cultivo de plantas leguminosas, especialmente forrajeras, en suelos derivados de cenizas volcánicas (trumaos), se encuentra limitado en su producción debido a la elevada capacidad de retención de fósforo que ellos presentan (Goic, 1962; Herrera, 1964; Rodríguez, 1962). Por esta razón resulta de interés determinar la influencia que la fertilización fosfórica tiene sobre la eficiencia del proceso de fijación simbiótica del nitrógeno en andosoles chilenos y, en forma complementaria, determinar si diversas especies de leguminosas forrajeras presentan diferencias en sus necesidades de fósforo, o en la capacidad de extraerlo del suelo.

Con este objeto se cultivaron plantas de alfalfa, lotera, trébol rosado y trébol subterráneo, las que fueron inoculadas con cepas efectivas de *Rhizobium*, en un suelo derivado de cenizas volcánicas adicionado con dosis crecientes de fósforo.

## MATERIALES Y METODOS

La experiencia se realizó en primavera, cultivando las plantas en maceteros en invernadero, con fotoperíodo normal a la época y con una temperatura máxima controlada no superior a 28° C.

Se usó una muestra de un suelo perteneciente a la asociación de suelos Arrayán, obtenida a 25 Km al N.E. de la localidad de San Carlos, por el camino a San Fabian de Alico, provincia de Ñuble, a una profundidad de 0 a 30 cm. La muestra de suelo fue secada al aire y tamizada a 2 mm. Su análisis indicó: pH al agua (relación 1: 2,5) 6,3; nitrógeno total 0,65%; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> asimilable (Olsen) 0,59 mg/100 g de suelo; fijación de fósforo 17,5 ton P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha; aluminio de intercambio 27,5 mg/100 g de suelo, y densidad aparente 1,37 g/cm<sup>3</sup>.

Como fuente de fósforo se empleó fosfato monocálcico (Ca (H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> x H<sub>2</sub>O), el cual se agregó en polvo al suelo antes del llenado de los maceteros, en dosis logarítmica crecientes, equivalentes a 0, 100, 316, 1.000, 3.160 y 10.000 Kg/ha de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Para el cálculo de la cantidad de fertilizante por macetero se consideró una profundidad de raíces de 30 cm (4.110 ton de suelo/ha). Se usaron maceteros plásticos con una capacidad de 1 Kg de suelo.

Se utilizaron las siguientes plantas leguminosas:

— Alfalfa (*Medicago sativa* L.) cv. Moapa

<sup>1</sup>Recepción originales: 27 de noviembre de 1979.

<sup>2</sup>Ing. Agr., Departamento de Microbiología, U. de Concepción, Casilla 2407, Concepción, Chile.

<sup>3</sup>Quím. Farm., Dip. Bact., M.Sc., Departamento de Microbiología, U. de Concepción, Casilla 2407, Concepción, Chile.

<sup>4</sup>Ing. Agr., M.Sc., Departamento de Microbiología, U. de Concepción, Casilla 2407, Concepción, Chile.

- Trébol rosado (*Trifolium pratense* L.) cv. Quiñequel
- Trébol subterráneo (*Trifolium subterraneum* L.) cv. Tallarook
- Lotera (*Lotus corniculatus* L.) cv. Quimey

La siembra se efectuó colocando 15 semillas desinfectadas superficialmente (Herrera, 1964) en cada macetero, a una profundidad aproximada de 1 cm. En el momento de la siembra las semillas fueron inoculadas con inoculantes Nitragin (The Nitragin Co. Inc., Wisconsin, USA), específicos para cada leguminosa usada. En el transcurso de 21 días después de la siembra se hicieron 2 raleos, dejando 7 plantas por macetero. Se regó con agua destilada, de acuerdo a las necesidades de las plantas.

La cosecha se realizó después de 45 días, cuando se iniciaba la floración, extrayéndose las plantas con su sistema radicular. Las 7 plantas de cada macetero fueron consideradas como una sola muestra, en la que se determinó el peso seco, por secado a 60° C por 24 horas, y el contenido de nitrógeno, por la técnica de micro-Kjeldahl.

Como diseño experimental se utilizó el block al azar, con los tratamientos en triplicado. Los resultados fueron sometidos a análisis de variancia para establecer posibles diferencias entre tratamientos.

## RESULTADOS

Los rendimientos en materia seca, contenido total de nitrógeno y contenido porcentual de nitrógeno, correspondiente a las cuatro especies de leguminosas en relación a las dosis crecientes de fosfato, se presentan en los Cuadros 1, 2 y 3.

## DISCUSION

En el Cuadro 1, se observa la respuesta, en producción de materia seca, de las cuatro leguminosas a la fertilización fosfatada. Entre 0 y 316 Kg/ha de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> la producción de materia seca es muy reducida, aumentando ligeramente en relación a la dosis de fosfato, sin que se observen diferencias significativas. A partir de la dosis de 316 Kg/ha, se constata una respuesta que es directamente proporcional al logaritmo de la dosis de fósforo, con diferencias altamente significativas (P < 0,01) entre dosis consecutivas. El análisis de correlación entre el logaritmo de la dosis de fósforo y el rendimiento de materia seca dió resultados altamente significativos (P < 0,01), para alfalfa (r = 0,808), trébol rosado (r = 0,834) y trébol subterráneo (r = 0,829) y significativo (P < 0,05) para lotera (r = 0,745). Las ecuaciones de regresión entre rendimiento y el logaritmo de la dosis de fósforo fueron las siguientes:

$$\begin{aligned} \text{-- Alfalfa :} & \quad Y_{\text{alf.}} = 13,7010 \cdot X - 7,8875 \\ \text{-- Lotera :} & \quad Y_{\text{lot.}} = 10,1060 \cdot X - 9,2850 \\ \text{-- T. rosado :} & \quad Y_{\text{t.r.}} = 13,2125 \cdot X - 9,9563 \\ \text{-- T. subterráneo :} & \quad Y_{\text{t.s.}} = 14,6860 \cdot X - 7,7967 \end{aligned}$$

Ninguna de las plantas leguminosas manifestó síntomas de toxicidad al fósforo, ni disminución del rendimiento a la dosis más alta (10.000 Kg/ha de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), debido probablemente a la alta capacidad de retención de fósforo y bajo contenido de fósforo asimilable que caracteriza a los suelos derivados de cenizas volcánicas (Bleiholder, 1965).

El contenido total de nitrógeno de la parte aérea de las plantas (Cuadro 2) sigue aproximadamente la misma tendencia que la producción de materia seca. Esto es, para alfalfa y lotera, entre 0 y 316 Kg/ha de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, existe un incremento paulatino de los miligramos de nitrógeno, sin que existan diferencias estadís-

CUADRO 1. PESO SECO DE ALFALFA, LOTERA, TREBOL ROSADO Y TREBOL SUBTERRANEO, EN RELACION A DOSIS CRECIENTES DE FERTILIZACION FOSFATADA

TRATAMIENTOS P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Kg/ha	PESO SECO g/100 PLANTAS <sup>1</sup>			
	ALFALFA	LOTERA	T. ROSADO	T. SUBTERRANEO
0	5,65 a	1,33 a	2,15 a	5,65 a
100	7,45 a	3,80 a	4,14 a	9,24 a
316	9,32 a	3,61 a	7,07 a	13,58 a
1.000	25,83 b	13,49 b	26,96 b	27,97 b
3.160	45,93 c	21,87 c	42,21 c	48,02 c
10.000	64,01 d	51,78 d	55,92 d	69,05 d

<sup>1</sup> Las cifras con la misma letra son estadísticamente iguales entre sí, al nivel de significancia del 1%.

CUADRO 2. NITROGENO TOTAL EN ALFALFA, LOTERA, TREBOL ROSADO Y TREBOL SUBTERRANEO, EN RELACION A DOSIS CRECIENTES DE FERTILIZACION FOSFATADA

TRATAMIENTOS P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Kg/ha	NITROGENO mg/100 PLANTAS <sup>1</sup>			
	ALFALFA	LOTERA	T. ROSADO	T. SUBTERRANEO
0	247 a	56 a	85 a	199 a
100	321 a	157 a	166 a	322 ab
316	400 a	158 a	290 b	468 b
1.000	706 b	571 b	824 c	789 c
3.160	1.004 c	720 c	1.039 d	1.040 d
10.000	1.306 d	900 d	1.122 d	1.441 e

<sup>1</sup> Las cifras con la misma letra son estadísticamente iguales entre sí, al nivel de significancia del 1%.

CUADRO 3. PORCENTAJE DE NITROGENO EN ALFALFA, LOTERA, TREBOL ROSADO Y TREBOL SUBTERRANEO, EN RELACION A DOSIS CRECIENTES DE FERTILIZACION FOSFATADA

TRATAMIENTOS P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Kg/ha	CONTENIDO PORCENTUAL DE NITROGENO <sup>1</sup>			
	ALFALFA	LOTERA	T. ROSADO	T. SUBTERRANEO
0	4,54 a	4,21 a	3,97 a	3,52 a
100	4,33 a	4,16 a	4,01 a	3,50 a
316	4,29 a	4,36 a	4,09 a	3,54 a
1.000	2,74 b	4,24 a	3,08 b	2,84 b
3.160	2,19 b	3,32 b	2,45 c	2,24 c
10.000	2,04 b	1,74 c	2,00 d	2,09 c

<sup>1</sup> Las cifras con la misma letra son estadísticamente iguales entre sí, al nivel de significancia del 1%.

ticas entre los tratamientos. En trébol rosado y trébol subterráneo, se observa una respuesta altamente significativa a la dosis de 316 Kg/ha, en relación a la dosis inmediatamente inferior y al testigo, respectivamente. Al igual que la producción de materia seca, el contenido total de nitrógeno aumentó abruptamente a partir de 1.000 Kg/ha de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, alcanzándose los máximos contenidos de nitrógeno total a 10.000 Kg/ha, sin que se manifiesten síntomas de depresión de la simbiosis *Rhizobium*-leguminosas, por la alta dosis de fósforo.

Este incremento del nitrógeno total se considera la consecuencia de la estimulación general del desarrollo de las leguminosas por el fósforo, puesto que este elemento no tiene un rol específico en el mecanismo de fijación de nitrógeno. Ramaswami y Nair (1965) cultivaron una leguminosa (*Sesbania speciosa*) en arena y encontraron que la carencia de fósforo reduce significativamente la cantidad de nitrógeno fijado y la producción del cultivo. Este fenómeno lo observó también Herrera (1964), en plantas de alfalfa cultivadas en un suelo derivado de cenizas volcánicas, en au-

sencia de fertilización fosfórica, las que mostraron un desarrollo aéreo y radicular muy restringido.

Al relacionar la producción de materia seca con el nitrógeno expresado en porcentaje (Cuadros 1 y 3), para las diferentes leguminosas y tratamientos empleados, se observó que con aplicaciones de fosfato iguales o inferiores a 316 Kg/ha de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, existe una acumulación de nitrógeno en el tejido vegetal, encontrándose porcentajes anormalmente altos. Esto mismo observó Herrera (1964), al cultivar plantas de alfalfa en un suelo trumao, con y sin fertilización fosfórica, y relaciona este incremento de nitrógeno en las plantas cultivadas en suelo sin fósforo con una acumulación de aminoácidos en los tejidos del vegetal, los cuales no podrán incorporarse a la estructura protéica, por deficiencia de fósforo, elemento vital en su síntesis. Gleister y Parker (1957) observaron que en hojas de alfalfa cultivada en arena deficiente en fósforo, existía una mayor cantidad de asparragina, arginina y glutamina, pero una disminución en la cantidad de ácido glutámico y prolina, no existiendo cambios en otros aminoácidos.

A partir de la dosis de 1.000 Kg/ha de  $P_2O_5$ , para alfalfa, trébol rosado y trébol subterráneo, y de 3.160 Kg/ha en el caso de la lotera, se produce una disminución gradual de los contenidos porcentuales de nitrógeno, para llegar a valores que se indican como normales (Morrison, 1954; Vargas *et al.*, 1965).

La respuesta similar, observada en las cuatro leguminosas ensayadas, a cada dosis de fertilizante fosfatado agregado, señala que ellas no difieren en sus necesidades de este nutriente, o en la capacidad para extraerlo del suelo.

## RESUMEN

Se estudió la influencia de la fertilización fosfórica en el crecimiento y el contenido de nitrógeno de leguminosas cultivadas en invernadero, en suelo trumao (andosol), de elevada capacidad de retención de fósforo. Aplicaciones de hasta 316 Kg/ha de  $P_2O_5$ , produjeron un incremento paulatino, pero no significativo, de la producción de materia seca. Con dosis superiores, hasta 10.000 Kg/ha, se obtuvo diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ), sin que se manifestaran

síntomas de toxicidad al fósforo. Una tendencia similar se observó en el contenido total de nitrógeno de la parte aérea de las cuatro leguminosas: la deficiencia de fósforo produjo aumento anormal del contenido porcentual de nitrógeno, que se normalizó con aplicaciones superiores a 316 Kg/ha de  $P_2O_5$ .

No se observó diferencias en la respuesta a la fertilización fosfórica entre las cuatro especies leguminosas ensayadas.

## SUMMARY

### Influence of phosphorus on growth and nitrogen content of four legumes inoculated with *Rhizobium*

The effect of phosphorus fertilization on growth and nitrogen content of legumes grown on a trumao soil, with high phosphorus retention capacity, was studied under greenhouse conditions.

Dry matter yields increased steadily, but not significantly, when applying up to 316 Kg of  $P_2O_5$  per hectare. Higher doses, up to 10.000 Kg, yielded highly

significant differences ( $P < 0,01$ ), without noticeable toxicity. A similar tendency was observed in total nitrogen content of the aerial parts of the four legumes: phosphorus deficiency caused an abnormal increase in percent of nitrogen content, which became normal only above 316 Kg of  $P_2O_5$  per hectare.

The four legume species tested did not differ in their response to phosphorus applications.

## LITERATURA CITADA

- ALEXANDER, M. 1961. *Introduction to soil microbiology*. John Wiley and Sons, Inc., New York, USA, 472 p.
- BLEIHOLDER E., H. 1975. Factores que afectan a la determinación de la fijación de fósforo en algunos suelos chilenos. Chillán, Chile, Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía, 108 p. (Tesis mimeografiada).
- GLEISTER, M.E. and PARKER, H.E. 1957. The effect of phosphorus deficiency on the free amino acids of alfalfa. *Arch. Biochem. and Biophysics*, 71: 430.
- GOIC K., P. 1962. Contenido y fracciones de fósforo en muestras procedentes de alfalfares chilenos. Chillán, Chile, Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía, 243 p. (Tesis mimeografiada).
- HERRERA O., A. 1964. Efectividad comparativa de inoculantes comerciales y cepas naturales de *Rhizobium meliloti* en alfalfa. Chillán, Chile, Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía, 59 p. (Tesis mimeografiada).
- MORRISON, F.B. 1954. *Compendio de alimentación de ganado*. Traducción de la 8a edición en inglés por José Luis de la Loma. México, Unión Tipográfica Editorial Hispano Americana, 603 p.
- RAMASWAMI, P.P. and NAIR, K.S. 1965. Nutritional factors affecting nitrogen fixation in *Sesbania speciosa*. *Indian Journal of Microbiology*. Vol. 5: 77-84.
- RODRIGUEZ S., D. 1962. Influencia de fertilización con mono-, bi-, y trifosfato de Ca, K y Na, en alfalfa calverde sembrada en maceteros con cuatro suelos chilenos que presentan dificultades a su establecimiento. Chillán, Chile, Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía, 182 p. (Tesis mimeografiada).
- VARGAS U., M.; URBA M., R.; ENERO R., R.; BAEZ G., H.; PARDO R., P. y VISCONTI P., C. 1965. *Composición de alimentos chilenos en uso de ganadería y avicultura*. Santiago, Chile, Ministerio de Agricultura, 33 p.
- WALLACE, T. 1961. *The diagnosis of mineral deficiencies in plants by visual symptoms*. 3rd. ed. London, H.M. Stationery Office, 10 p.