

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS



Aporte de nitrógeno al suelo por tres leguminosas nativas,  
en ambiente de invernadero.



Víctor Hermógenes Castillo Díaz

Guatemala, abril de 2003

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS



**Aporte de nitrógeno al suelo por tres leguminosas nativas,  
en condiciones de invernadero.**

TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

Víctor Hermógenes Castillo Díaz

En el acto de investidura como

INGENIERO AGRÓNOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA  
EN EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADO

Guatemala, abril de 2003

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

Dr. M.V. Luís Alfonso Leal Monterroso

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

DECANO	Ing. Agr. Edgar Oswaldo Franco Rivera
VOCAL PRIMERO	Ing. Agr. Walter Estuardo García Tello
VOCAL SEGUNDO	Ing. Agr. Manuel de Jesús Martínez Ovalle
VOCAL TERCERO	Ing. Agr. Erberto Raúl Alfaro Ortíz
VOCAL CUARTO	Br. Wener Armando Ochoa Orozco
VOCAL QUINTO	Br. Juan Manuel Corea Ochoa
SECRETARIO	Ing. Agr. Edíl René Rodríguez Quezada

Guatemala, abril de 2003

Honorable Junta Directiva  
Honorable Tribunal Examinador  
Facultad de Agronomía  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
Presente

Distinguidos miembros.

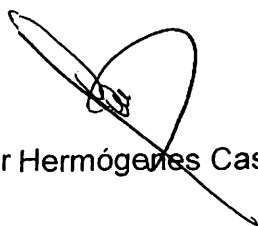
De conformidad con las normas establecidas en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a su consideración el trabajo de tesis titulado.

**Aporte de nitrógeno al suelo por tres leguminosas nativas, en ambiente de invernadero.**

Presentado como requisito previo a optar el Título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

En espera que la presente investigación llene los requisitos necesarios para su aprobación, me es grato presentarles mi agradecimiento.

Atentamente,



Víctor Hermógenes Castillo Díaz.

## TESIS QUE DEDICO

A:

Mi país Guatemala

Universidad de San Carlos de Guatemala  
Facultad de Agronomía  
Mis centros de estudio

mis asesores:

**Ing. Agr. Ovidio Aníbal Sacbaja Galindo**  
**Ing. Agr. Francisco Javier Vásquez V.**  
Gracias por su apoyo y amistad.

**todos los miembros de la sub Area de Ciencias Biológicas**  
Gracias por todo lo que acá he aprendido,  
en especial al profesor José Ernesto Carrillo.

la escuela campesina de la Sierra de las Minas  
Sigán adelante

## ACTO QUE DEDICO

**A:**

**PADRE CREADOR:** Por darme la vida y ser fuente de sabiduría.

**MIS PADRES:** **Jovita Rosario Díaz de Paz**  
**Fernando Antulio Castillo R.**  
Quienes con mucho amor, esfuerzo y sacrificio me apoyaron para lograr la meta que hoy alcanzo.

**MI ESPOSA:** **Ivonee S. Godínez Miranda**  
Por su apoyo y amor.

**MI HIJO:** **Fernando Antulio**  
Con tu sonrisa me diste ánimos

**MIS HERMANOS:** **Gladis Eunice**  
**Luís Francisco Javier**  
**Eduardo Antulio**  
Gracias por su apoyo

**MI FAMILIA:** Gracias a todos mis tíos, primos, sobrinos que colaboraron en este proceso, en especial a la familia de mi esposa que me brindo mucho amor, en esta parte final.

**MIS**  
**COMPAÑEROS:** Mencionar a todos me llevaría un gran espacio por que son muchos y podría olvidar accidentalmente a alguno. Creo que la universidad nos brinda un espacio para conocer muchas personas y a todos los que colaboraron conmigo muchas gracias y éxitos.

**MIS AMIGOS:** Por su apoyo especialmente a Polly, Oscar y Oscarín Castañeda. Y los excompañeros de Vecinos Mundiales.

# CONTENIDO GENERAL

	Página
INDICE .....	i
INDICE DE CUADROS .....	iv
INDICE DE FIGURAS .....	v
INDICE DE GRAFICAS.....	vi
RESUMEN.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
3. MARCO TEÓRICO .....	4
3.1 Marco Conceptual.....	4
3.1.1 Ciclo del nitrógeno .....	4
3.1.2 Aspectos generales del genero Rhizobium o Rhizobia.....	8
3.1.3 Mutualismo Rhizobium- Leguminosas (Fabaceas).....	9
3.1.4 Factores que afectan la relación mutualista rizobio – leguminosa.....	10
3.1.4.1 Factores ambientales.....	10
3.1.4.2 Factores edáficos .....	11
3.1.4.3 Factores biológicos.....	12
3.1.5 Nodulación.....	13
3.1.5.1 Mecanismos y formación de nódulos .....	13
3.1.5.2 Formas y anatomía de los nódulos .....	14
3.1.5.3 Indicador de efectividad .....	16
3.1.6 Métodos para determinar el nitrógeno en leguminosas.....	16
3.1.6.1 Estimado de la biomasa.....	16
3.1.6.2 Determinado de la cantidad de nitrógeno en el follaje.....	17
3.1.6.3 Contenido total de nitrógeno .....	18
3.2 Marco Referencial .....	19
3.2.1 Ubicación y descripción del sitio experimental .....	19
3.2.2 Condiciones climáticas.....	19

	Página
3.2.3 Características del material experimental.....	19
3.2.3.1 Tefrosia ( <i>Tephrosia lanata</i> Mercado. & Gal).....	19
3.2.3.2 Chipilín ( <i>Crotalaria longirostrata</i> Hook. & Arn).....	20
3.2.3.3 Lupino ( <i>Lupinus elegans</i> L-TBK).....	20
4. OBJETIVOS .....	21
4.1 Objetivo General.....	21
4.2 Objetivos Específicos .....	21
5. HIPÓTESIS .....	21
6. METODOLOGÍA.....	22
6.1 Factores evaluados .....	22
6.2 Definición de los tratamientos.....	22
6.3 Diseño experimental.....	23
6.4 Unidad experimental.....	23
6.5 Croquis de campo .....	24
6.6 Variables de respuesta.....	24
6.6.1 Variable básica .....	24
6.6.2 Variables auxiliares .....	25
6.7 Manejo del Experimento .....	25
6.7.1 Preparación del suelo para las macetas .....	25
Nivel óptimo de fósforo.....	26
6.7.2 Preparación del suelo.....	28
6.7.3 Manejo agronómico .....	28
6.7.4 Obtención de la semilla .....	28
6.7.5 Riego .....	29
6.7.6 Inoculación del Rizobium.....	29
6.7.7 Cosecha.....	29
6.8 Análisis de la información .....	29

	Página
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
7.1 Peso seco foliar por planta .....	31
7.2 Nitrógeno total foliar por planta.....	34
7.3 Regresión entre la variable nitrógeno foliar / planta versus peso seco foliar.....	38
7.3.1 Importancia de la correlación entre la variable nitrógeno total / planta versus peso seco / planta.....	38
8. CONCLUSIONES .....	40
9. RECOMENDACIONES .....	41
10. BIBLIOGRAFÍA.....	42
11. ANEXOS .....	44

## ÍNDICE DE CUADROS

	Página
CUADRO 1. Principales procesos identificados en el ciclo del nitrógeno .....	7
CUADRO 2. Características de los géneros Rhizobium, Bradyrhizobium y Azorhizobium ....	9
CUADRO 3. Cantidad de nitrógeno aportado por la biomasa de diferentes especies leguminosas según diferentes autores.....	18
CUADRO 4. Descripción de los 12 tratamientos evaluados a nivel de invernadero .....	22
CUADRO 5. Resultados del análisis de laboratorio de la broza, que se uso en la investigación .....	26
CUADRO 6. Resultados del análisis de laboratorio de suelo y arena que se usaron en la investigación.....	25
CUADRO 7. Resultados del análisis de laboratorio de los sustratos con 2, 4 y 6 % de contenido de M.O. usados en la evaluación de las tres leguminosas .....	28
CUADRO 8. Resultados del ANDEVA del peso seco foliar de los 12 tratamientos .....	31
CUADRO 9. Prueba de medias de TUKEY, para la variable peso seco foliar, por leguminosas. (gr./planta) .....	32
CUADRO 10. Prueba de medias de TUKEY, para la variable peso seco foliar, por contenido de M.O. (gr./planta) .....	32
CUADRO 11. Prueba de medias de TUKEY, para la variable peso seco foliar, para la interacción de contenido de M.O. por Leguminosa.....	33
CUADRO 12. Resultados del ANDEVA del nitrógeno total foliar/ planta .....	34
CUADRO 13. Prueba de medias de TUKEY, para la variable nitrógeno total foliar, por leguminosas (gr./planta) .....	35
CUADRO 14. Prueba de medias de TUKEY, para la variable N total foliar, por contenido de M.O. (gr./planta) .....	37

CUADRO 15. Prueba de medias de TUKEY, para la variable N total foliar, para la interacción  
contenido de M.O. por leguminosa (gr./planta)..... 37

CUADRO 16A. Método de Kjeldahl, modificado para incluir a los nitratos ..... 45

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Esquema general de la transferencia de nitrógeno entre la atmósfera y el ambiente terrestre .....	6
FIGURA 2. Ciclo del Nitrógeno en el suelo.....	8
FIGURA 3. Interacción entre los rizobios y la raíz de una planta leguminosa: infección y formación de nódulos.....	14
FIGURA 4. Tipos de nodulaciones en diferentes plantas de la familia Fabaceae .....	15
FIGURA 5. Fotografía de la maceta empleada como unidad experimental .....	23
FIGURA 6. Distribución de los tratamientos en el invernadero en parcelas divididas .....	24
FIGURA 7A. Comparación del subtratamiento Tefrosia ( <i>Tephrosia lanata</i> Mercado. & Gal.) en las cuatro diferentes parcelas grandes con 6, 4, 2 % de materia orgánica y testigo (0%) .....	46
FIGURA 8A. Comparación del subtratamiento Chipilín ( <i>Crotalaria longirostrata</i> Hook. & Arn.) en las cuatro diferentes parcelas grandes con 6, 4, 2 % de materia orgánica y testigo (0%) .....	46
FIGURA 9A. Comparación del subtratamiento Lupino ( <i>Lupinus elegans</i> I-TBK) en las cuatro diferentes parcelas grandes con 6, 4, 2 % de materia orgánica y testigo (0%)	46
FIGURA 10A. Chipilín ( <i>Crotalaria longirostrata</i> Hook. & Arn.) .....	47
FIGURA 11A. Tefrosia ( <i>Tephrosia lanata</i> Mercado. & Gal.) .....	48
FIGURA 12A. Lupino ( <i>Lupinus elegans</i> I-TBK).....	49

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

GRAFICA 1. Comparación del peso seco foliar de Tefrosia (TE), Chipilín (CH) y Lupino (LU) en 2, 4 y 6% de materia orgánica .....	33
GRÁFICA 2. Dendrograma del comportamiento del Nitrógeno total aportado por la biomasa foliar de Tefrosia (TE), Chipilín (CH) y Lupino (LU).....	35
GRAFICA 3. interpretación del nitrógeno total foliar aportado por Tefrosia (TE), Chipilín (CH) y Lupino (LU) en 0, 2, 4 y 6% de materia orgánica. ....	36
GRAFICA 4. Regresión lineal entre el nitrógeno total foliar aportado por planta y el peso seco foliar por planta de todos los tratamientos .....	38

## Aporte de nitrógeno al suelo por tres leguminosas nativas, en ambiente de invernadero.

### RESUMEN

Este trabajo se desarrolló dentro de la temática de los abonos verdes encontrando como justificación la falta de información que existe sobre el tema a nivel nacional y mas cuando se trata de materiales nativos. Los materiales evaluados fueron Chipilín *Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn., Tefrosia *Tephrosia lanata* Mercado. & Gal. y Lupino *Lupinus elegans* I-TBK. a los 78 días después de la siembra.

Con el objetivo de Generar información en cuanto a la cantidad de nitrógeno aportada al suelo por las especies leguminosas. Identificando cual de las especies leguminosas, aporta la mayor cantidad de nitrógeno al suelo. Cuando se cultiva en suelo con diferentes contenidos de materia orgánica, a los 78 días después de la siembra, en condiciones de invernadero.

En esta investigación se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo en parcelas divididas, utilizando 4 niveles para la parcela grande incluido un testigo y tres niveles para las parcelas pequeñas haciendo un total de 12 tratamientos distribuidos en cuatro repeticiones.

Los resultados obtenidos indican que el contenido de materia orgánica se vio afectando el peso seco con relación a la especie de leguminosa, permitiendo identificar a Lupino como la especie que aporta la mayor cantidad de peso seco foliar (9.36 gramos de peso seco / planta) muy superior a Chipilín y Tefrosia. Y al contenido de materia orgánica del 6% como el que más aporte realizó de materia seca. En la interacción Lupino fué superior a las otras dos leguminosas al 6% de materia orgánica.

La respuesta en cuanto al aporte de nitrógeno al suelo de las tres especies a los 78 días después de sembradas, se observó que para suelos con contenido de materia orgánica igual al 2% la especie que mayor resultado reportó fue Tefrosia (*Tephrosia lanata*) debido a la prueba de medias demostró que esta especie es bastante estable en todos los contenidos de materia orgánica. Para suelos ricos en materia orgánica iguales al 6 %, se identifica la especie Lupino (*Lupinus elegans*), con un mejor potencial de aportación de nitrógeno con 0.175 gr. de nitrógeno / planta.

Mediante el análisis de regresión lineal se determinó que las variables nitrógeno total foliar / planta y peso seco del follaje / planta están altamente correlacionados en proporción directa es decir que a mayor cantidad de peso seco mayor aporte de nitrógeno en el suelo.

## 1. INTRODUCCIÓN

A mediados del siglo XX, los cambios tecnológicos permitieron la producción masiva de nutrientes para plantas sin depender de reciclaje del material vegetal o animal. La producción y aplicación de los fertilizantes inorgánicos se volvió de pronto el método preferido en muchos lugares del mundo para suministrar los nutrientes de los cultivos. Fáciles de usar y eliminan el tiempo y trabajo necesario para cultivar plantas de abonos verdes (13).

A pesar de los beneficios de los fertilizantes inorgánicos, después de más de cuarenta años de uso, se han hecho aparentes algunos problemas. Como estos fertilizantes no son de fuentes orgánicas, no logran reponer la materia orgánica del suelo. Por tanto, aunque suministran nutrientes, el uso repetido de los fertilizantes inorgánicos, sin adiciones simultáneas de material orgánico, disminuye la cantidad disponible de otros micronutrientes necesarios para las plantas. Algunos agricultores se están encontrando que sus suelos requieren adiciones anuales cada vez más altas de tales fertilizantes para mantener el rendimiento de sus cultivos (15).

La aplicación de materiales orgánicos del tipo purines, gallinaza y estiércoles, requiere un conocimiento del suelo, para evitar la contaminación del manto freático con  $\text{NO}_3^-$ , al igual que el uso de fertilizantes inorgánicos (9).

El abuso de los fertilizantes orgánicos e inorgánicos, provoca la contaminación del agua, resultando un peligro para la vida humana y animal; y el sobrecrecimiento de algas en lagos y estanques, que llevan al agotamiento del oxígeno y la pérdida de peces y de otras formas de vida (15).

La producción de fertilizantes nitrogenados requiere de importante energía. A la fecha, esta energía ha venido casi enteramente del gas natural, un producto de combustibles fósiles, recursos no renovables que son altamente vulnerables a los cambios políticos y económicos del mundo. Además estos fertilizantes no están fácilmente disponibles en muchos lugares, o los costos de transporte los hacen prohibitivamente caros para la familia agricultora promedio (15).

En los últimos años ha surgido un gran interés alrededor del mundo por encontrar y emplear tecnologías agrícolas de bajo costo que estén orientadas al sostenimiento productivo de los ecosistemas y la seguridad alimentaria de agricultores de escasos recursos económicos (13).

Nuestro país cuenta con un clima favorable para la utilización de leguminosas (plantas de la familia Fabaceae) nativas. Pero muy poca información se tiene sobre la cantidad que estas proporcionan de nitrógeno al suelo. Aun cuando se puede extrapolar la información de

estudios realizados en otros países no corresponden a los materiales nativos, y tampoco a las condiciones climáticas edáficas y biológicas de nuestro país (6,12,13 y15).

Esta investigación esta orientada a determinar la cantidad de nitrógeno que tres especies vegetales nativas del país: Tefrosia (*Tephrosia lanata* Mercado & Gal.), Chipilín (*Crotalaria longirostrata* Hook & Arn.) y Lupino (*Lupinus elegans* I-TBK.) respectivamente pueden aportar en cuatro diferentes tipos de suelo, con 2%, 4% y 6% de materia orgánica y un testigo que es arena.

La investigación planteada tuvo la finalidad de cuantificar el nitrógeno que aportan las tres especies vegetales evaluadas al suelo, y cuál de estas plantas aporta la mayor cantidad. Así como también relacionar el contenido de materia orgánica en función de la cantidad contribuida de nitrógeno, simulando las condiciones de campo.

Esta investigación se planteó en un diseño completamente al azar con arreglo de parcelas divididas, donde las parcelas grandes las constituyen los contenidos de MO del sustrato, las parcelas pequeñas las tres Leguminosas, haciendo un total de doce combinaciones o tratamientos, con cuatro repeticiones. Determinando la cantidad de nitrógeno que se encuentra en cada una de las tres plantas evaluadas en la parte aérea después del proceso de captura del nitrógeno atmosférico en mutualismo con las bacterias nitrificantes.

Esta investigación se realizó con el apoyo técnico y físico de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, a través de su equipo especializado del laboratorio de Suelos "Ing. Salvador Castillo Orellana" e Instalaciones del CEDA (invernadero).

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente el abuso en el uso de fertilizantes nitrogenados de origen inorgánico como la urea y el nitrato de amonio. Como de fertilizantes orgánicos (los purines) han sido criticados por su efecto sobre la salud humana y contaminación del ambiente. Ante esta problemática se ha pretendido obtener nuevas plantas de cultivo (maíz, trigo y arroz) que puedan fijar nitrógeno mediante ingeniería genética lo que se ha considerado el mayor reto de la biotecnología y, hasta hoy, ha sido su mayor fracaso. Debido a la complejidad del sistema regulador de la fijación del nitrógeno, es muy difícil, conseguir que estas plantas expresen el gen *nif*. Los genes, colectivamente denominados *nif*, codifican unas 17 proteínas (3).

Algunas especies de la familia Fabáceae (Leguminosas) en mutualismo (simbiosis) con bacterias nitrificantes capturan el nitrógeno atmosférico en sus tejidos que después aportan al suelo para su aprovechamiento por otras especies cultivadas en la producción agrícola. Guatemala es un país con mucho potencial en este tipo de especies Fabáceas fijadoras de nitrógeno, sin embargo es evidente la falta de información en el ámbito nacional en cuanto a la cantidad de nitrógeno que las especies vegetales: *Crotalaria longirostrata* Hook & Arn., *Lupinus elegans* I-TBK. y *Tephrosia lanata* Mercado & Gal aportan al suelo.

El uso de estas especies como abonos verdes puede mejorar las propiedades físicas de los suelos, sin embargo hasta hoy se desconoce que tanto estas plantas pueden aportar al suelo.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Marco Conceptual

##### 3.1.1 Ciclo del nitrógeno

La mayor reserva de nitrógeno se encuentra en la atmósfera; según, Tisdale y Nelson aproximadamente un 78% (18). Según, la FAO, citado por Monegat el aire contiene 80% de nitrógeno ( $N_2$ ) lo que corresponde a más o menos 6,400 Kg. del elemento sobre una hectárea (8).

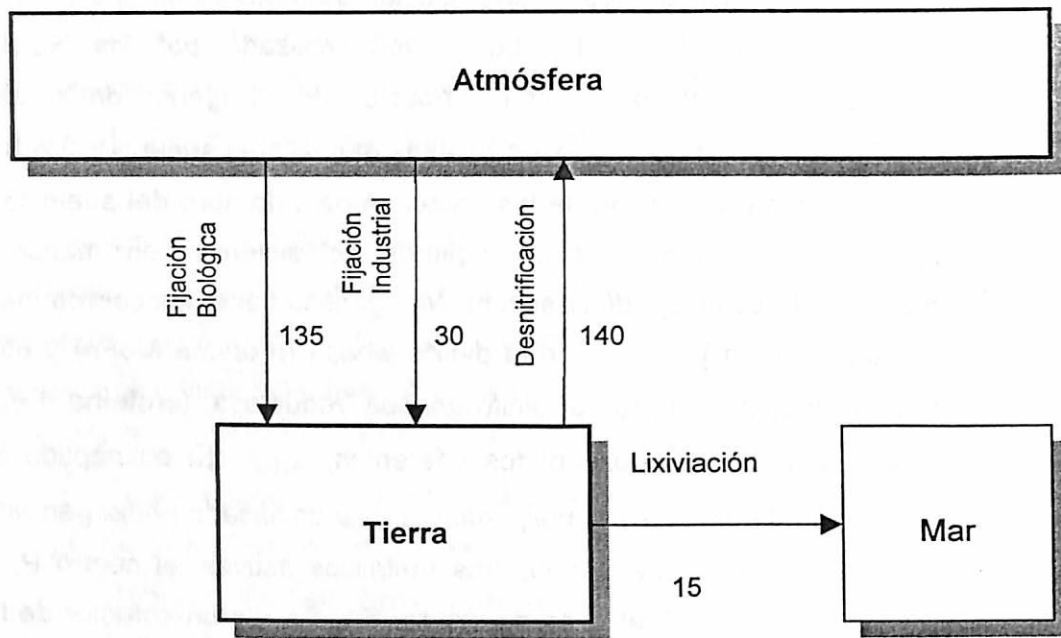
Los iones de nitrógeno inorgánico, amonio, nitrito y nitratos se encuentran como sales muy solubles en agua. La materia orgánica viva y muerta supone una pequeña reserva activa de nitrógeno de reciclado activo. En regiones de clima tropical, la temperatura y la humedad favorecen una mineralización rápida y directa, lo cual limita la acumulación de materia orgánica (3).

A continuación las formas de fijación de nitrógeno:

- a) *Industrial*, según Atlas y Bartha es el equivalente a 30 millones de toneladas por año (1975). Pero se calcula que aumentará a 100 millones de toneladas para el año 2000 (3). Para este proceso se sigue utilizando el método de **Fritz Haber** un químico y premio Nobel alemán, conocido por su desarrollo de un método económico de síntesis del amoníaco. El mayor éxito de Haber fue su descubrimiento en 1913 de un proceso de síntesis del amoníaco por combinación directa del nitrógeno y el hidrógeno. Este método lo adaptó el químico alemán Carl Bosch para su uso comercial en la década de 1930. El proceso de Haber-Bosch se utiliza en la fabricación de explosivos y en la producción de fertilizantes actualmente.
- b) *Biológica*, acá se calcula que asciende a 135 millones de toneladas por año. El ciclo biogeoquímico del nitrógeno depende en gran medida de la actividad de los microorganismos (3).
  - b.1) No – Simbiótica: esta la realizan los microorganismos de vida libre, que rodean la rizosfera. A pesar que la tasa de fijación de nitrógeno de las bacterias libres del suelo es relativamente baja, estas bacterias son abundantes. Gracias a la disponibilidad de compuestos orgánicos procedentes de los exudados de las raíces, la tasa de fijación de nitrógeno de bacterias como *Azotobacter* y *Azospirillum* es mayor en la rizosfera que en el suelo libre de raíces (3).

- b.2) Simbiótica: Beijerinck entre 1888 y los primeros años del siglo XX, descubrió las bacterias fijadoras de nitrógeno, su relación simbiótica con plantas leguminosas y el papel de esta relación en la fertilidad del suelo (7). Realmente lo que sucede acá es una relación de mutualismo entre una planta leguminosa y una bacteria. La fijación realizada por los Rizobios – Leguminosa representa la mayor contribución de nitrógeno combinado. La tasa de fijación de nitrógeno de los rizobios mutualistas suele ser 2 a 3 veces superior a la tasa de fijación de las bacterias de vida libre del suelo (3). La fijación de nitrógeno atmosférico depende del sistema enzimático de la *Nitrogenasa*. El complejo de la enzima *Nitrogenasa* tiene dos coproteínas, una que contiene hierro y molibdeno la dinitrogenasa (proteína MoFe) y otra que solamente contiene hierro la dinitrogenasa reductasa (proteína Fe). La dinitrogenasa tiene dos polipéptidos diferentes,  $\alpha_2\beta_2$ . El polipéptido  $\alpha$  está codificado por el gen *nifD* y el polipéptido  $\beta$  está codificado por el gen *nifK*. La proteína dinitrogenasa tiene dos centros metálicos activos: el centro P, con 8 átomos de hierro y 7 –8 átomos de azufre ( $Fe_8 S_{7-8}$ ), y un cofactor de hierro-molibdeno (co-FeMo) con 7 átomos de hierro, 9 de azufre, 1 de molibdeno y una molécula de homocitrato ( $Fe_7S_9Mo$ -homocitrato). El centro P actúa como un aceptor intermediario de electrones y probablemente transfiere los electrones al centro co-FeMo. La función de este centro es la reducción del nitrógeno. La proteína dinitrogenasa reductasa (proteína de Fe) está constituida por dos polipéptidos idénticos,  $\gamma_2$ , codificados por el gen *nifH*. Cada polipéptido contiene dos átomos de hierro. Los cuatro átomos de hierro se organizan para formar un centro  $Fe_4S_4$ . La principal función de la proteína de hierro es unirse al MgATP, hidrolizar y transferir los electrones del centro  $Fe_4S_4$  al centro P de la proteína MoFe. Ambas proteínas están plegadas de tal manera que sus centros activos se encuentran muy próximos entre sí. (3)
- La *Nitrogenasa* es muy sensible al oxígeno, necesita una presión parcial muy baja de este elemento para poder desarrollar su actividad. El proceso de fijación de nitrógeno necesita, además de la *Nitrogenasa*, ATP, una ferredoxina reducida y quizás otros citocromos o coenzimas. El amonio es el primer producto que se detecta en el proceso de fijación (1).
- Hoben citado por Atlas Bartha menciona que las asociaciones fijadoras de nitrógeno (diazotrofas) entre rizobios y plantas leguminosas tienen una gran importancia en el ciclo global del nitrógeno y en la agricultura (3).

En la siguiente FIGURA 1 se encuentra el esquema general de la transferencia de nitrógeno entre la atmósfera y el ambiente terrestre:



**FIGURA 1. Esquema general de la transferencia de nitrógeno entre la atmósfera y el ambiente terrestre.** Se indican algunas tasas de transferencia (los números indican millones de toneladas por año). Debido a la omisión de algunos procesos de transferencia mínimos, no se consigue un equilibrio completo. [Fuente: Burns y Hardy citado por Atlas y Bartha (2), modificado por Castillo, H.]

El nitrógeno es un elemento necesario para el crecimiento de las plantas, que en el suelo además de ser conservado debe ser regulado, por los problemas que ocasiona su lixiviación como  $\text{NO}_3^-$  o  $\text{NO}_2^-$  al manto freático (4, 9).

A continuación se encuentra el CUADRO 1 que contiene los principales procesos identificados en el ciclo del nitrógeno y la FIGURA 2 que esquematiza el ciclo del nitrógeno en el suelo.

CUADRO 1. Principales procesos identificados en el ciclo del nitrógeno

Denominación	Descripción
Fijación de N <sub>2</sub> atmosférico	Incorporación por la lluvia al suelo: NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> Fijación simbiótica: NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> en el suelo Actividad bacteriana: Rhizobium y otros: N <sub>2</sub> + 6H <sup>+</sup> → 2 NH <sub>3</sub> Fijación no simbiótica: N-orgánico y NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> Procesos industriales: fabricación de fertilizantes tales como: NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> y NH <sub>2</sub>
Fijación en compuestos orgánicos de seres vivos	Plantas, animales y sus residuos, estiércoles, purines y desechos urbanos
Inmovilización	Estabilización en el suelo en forma N-orgánico (humus) Actividad microbiana que incorpora N en secuencias metabólicas para biosintetizar constituyentes celulares del organismo, en particular proteínas.
Mineralización	Paso de N-orgánico a NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> y NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> por hidrólisis. Afecta anualmente a un 2 – 3% del N inmovilizado en el suelo, y parcialmente a la materia orgánica recién incorporada.
Nitrificación	Paso de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> a NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> por oxidación enzimática, que tiene lugar en dos etapas: NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> → HONH <sub>2</sub> → HONNOH → NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> Por acción de bacterias autotróficas aerobias: <i>Nitrosomonas</i> , <i>Nitrosolobus</i> Nitrospira El NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> producido es tóxico para las plantas superiores. La oxidación prosigue: NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + O <sub>2</sub> → NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> por acción de bacterias autotróficas aerobias: <i>Nitrobacter</i>
Fijación NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> en arcillas	Formación de complejos de esfera interna
Adsorción NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> en arcillas	Formación de complejos de esfera externa, el NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> se encuentra en forma intercambiable.
Lavado y escorrentía superficial	El NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> no absorbido por las plantas, al no poder ser adsorbido por las arcillas ni por la materia orgánica es susceptible de ser lavado siendo transferido del suelo al agua freática. También puede haber pérdidas por erosión. El NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> se produce en suelos con drenaje insuficiente y condiciones reductoras.
Desnitrificación	El paso de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> a NO <sub>x</sub> <sup>-</sup> y a N <sub>2</sub> tiene lugar en medios anaeróbicos
Volatilización	El NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> puede perderse como NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> en suelos calizos y en suelos arenosos.

**FUENTE:** Tomado de la Edafología para la agricultura y el medio ambiente. [Porta, J. et. al. (9)]

Referencias:

- N<sub>2</sub> = nitrógeno
- NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = amonio
- NH<sub>3</sub><sup>+</sup> = amoniaco
- NH<sub>2</sub> = urea [(CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>)]
- NO<sub>3</sub><sup>-</sup> = nitrato
- NO<sub>2</sub><sup>-</sup> = nitrito

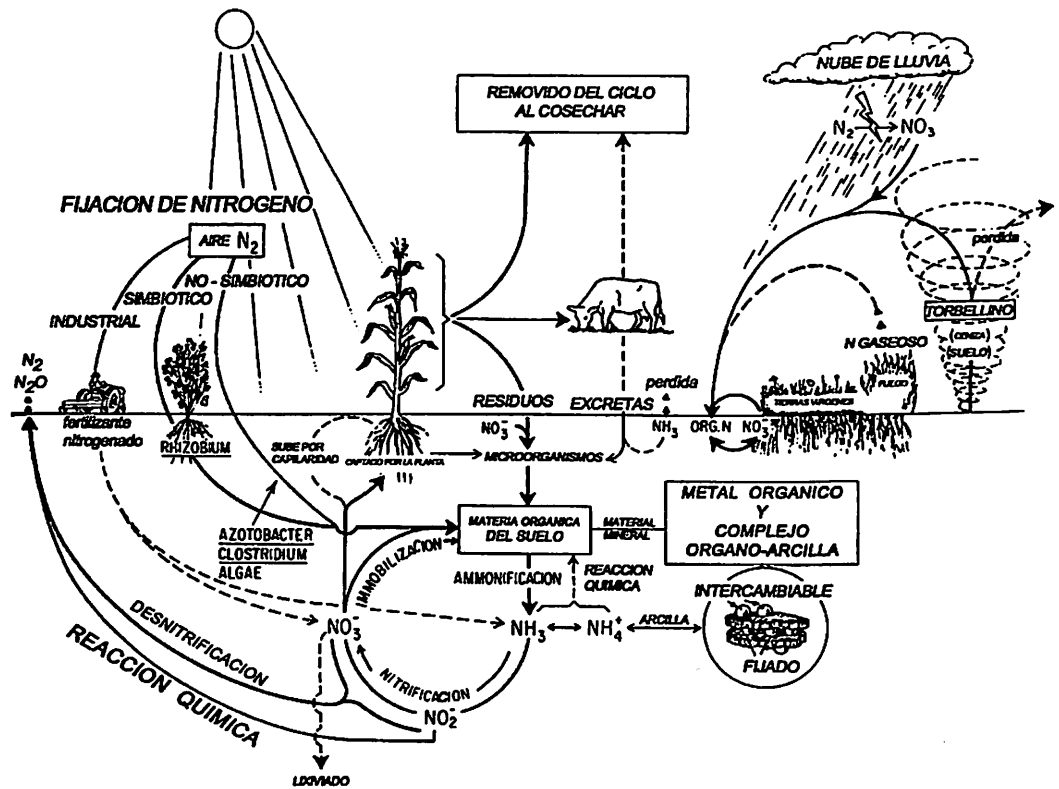


FIGURA 2. Ciclo del nitrógeno en el suelo [Tomado de Tisdale y Nelson (18)]

### 3.1.2 Aspectos generales del genero Rhizobium o Rizobia

Según Bergey, citado por Ramírez, las bacterias del género *Rhizobium* pertenecen al grupo de los bacilos Gram negativos, con dimensiones de 0.5 a 0.9 micras por 1.2 a 3 micras. Aparecen solos o en pares, casi siempre son móviles cuando son jóvenes con flagelos polares o subpolares en toda la periferia, frecuentemente con gránulos de poly- $\beta$ -hydroxi-butirato (11).

Allen, citado por Monegat, los define como organismos celulares en forma de bastón, aeróbicos y móviles que se multiplican por división celular (división binaria) y utilizan como fuente de energía azúcares, alcoholes y ciertos ácidos (8).

Respecto a los requerimientos vitamínicos de este género, se han realizado estudios con un gran número de cepas y se ha demostrado que el grupo (*Rhizobium leguminosarum*) requiere del agregado de una o más vitaminas: biotina, tiamina y pantetonato de calcio. Es usual decir que las bacterias de crecimiento rápido requieren de un mayor número de vitaminas que las de crecimiento lento (11).

Recientemente se creía que todas las bacterias fijadoras de nitrógeno que producen nódulos en leguminosas se clasificaban en un único género *Rhizobium*. Actualmente se conocen dos géneros más, *Azorhizobium* y *Bradyrhizobium*, y se podrán agregar más géneros en la medida que se estudien más especies de leguminosas junto con sus bacterias nodulantes (3). Como se puede observar a continuación en el CUADRO 2 con las características de los géneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* y *Azorhizobium*:

**CUADRO 2. Características de los géneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* y *Azorhizobium***

Carácter	<i>Rhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Azorhizobium</i>
Flagelación en medio líquido	Ninguna	Ninguna	Un flagelo lateral
Flagelación en medio sólido	Peritrica	Un flagelo polar o subpolar	Peritrica
Crecimiento con N <sub>2</sub> fijado fuera de las plantas	No	No	Todas las cepas
Velocidad de crecimiento en cultivo	Normalmente rápida	Normalmente lenta	Rápida
Rango específico con el hospedero	Normalmente reducido	Normalmente amplio	Hasta el momento solo se ha identificado una especie
Importancia agrícola	La mayoría de las leguminosas, cereales y cultivos de forraje	Soya, Lupino y <i>Vigna sinensis</i>	Ninguna (árboles leguminosos del tipo <i>Sesbania rostrata</i> )

Fuente: Sprent y Sprent 1998 [Tomado de Atlas y Bartha (2)]

### 3.1.3 Mutualismo *Rhizobium*- Leguminosas (Fabaceas)

Una de las principales asociaciones mutualistas entre microorganismos y plantas consiste en la invasión de las raíces de algunas plantas por bacterias fijadoras de nitrógeno, que causan la formación de un crecimiento tumoral de la raíz llamado nódulo. Según Atlas y Bartha, Dentro del nódulo, las bacterias de *Rhizobium* convierten al nitrógeno atmosférico en amoníaco, compuesto que proporciona el nitrógeno necesario para el crecimiento de la planta y de las bacterias (3). La captura de nitrógeno en los nódulos de las plantas es de extrema importancia para mantener la fertilidad del suelo (13).

La asociación entre rizobios y las raíces de las plantas leguminosas es específica, con un reconocimiento mutuo de los dos organismos compatibles, basado en una respuesta quimiotáctica y una unión específica a los pelos radicales previas a la invasión y a la formación

del nódulo. La raíz de la leguminosa reconoce la población rizobios correcta que, a su vez, reconoce el tipo de raíz adecuado (2).

Según Primavesi, para que se produzca una nodulación efectiva, se necesitan tres condiciones:

1. que la planta este genéticamente dispuesta a aceptar simbioses
2. que la planta sea fisiológicamente apta para recibirlos
3. que las condiciones del suelo sean favorables (10).

### 3.1.4 Factores que afectan la relación Mutualista Rizobio – Leguminosa

A continuación se describen algunos aspectos importantes del suelo que son limitantes en la relación mutualista *Rhizobium* – Leguminosa.

#### 3.1.4.1 Factores ambientales

##### A. Temperatura

Se ha estudiado la relación de la temperatura con respecto a la nodulación de las leguminosas y se ha llegado a determinar que esta es muy importante para el crecimiento y desarrollo de la leguminosa. Al punto que siempre que la humedad no sea un factor limitante la tasa de fijación N/ha/día, esta en estrecha relación con la temperatura del suelo. Pudiéndose observar que cuando la temperatura alcanza los 24° C la cantidad de nitrógeno en las raíces de la leguminosa alcanza sus valores máximos a los 30 días y decrece los 40 días. Por el contrario si la temperatura del suelo es de 17° C los valores máximos de nitrógeno en las raíces se encuentran alrededor de los 50 días, y merma hasta los 60 días (11).

Según la FAO, citado por Monegat la temperatura optima de crecimiento es de 28° C a 30° C, 35° C para algunas especies de *Rhizobium meloti* (8).

##### B. Aire

Según White et. al., citado por Monegat, los rizobios son organismos aeróbicos, aunque sobreviven en el suelo en condiciones de oxígeno inferiores a las del aire atmosférico (8).

##### C. Luz

Esta se encuentra en íntima relación con el proceso de la fotosíntesis el cual es de vital importancia para el proceso de fijación de nitrógeno por parte de los Rizobios, al punto que

todos los factores que favorecen la fotosíntesis favorecen el proceso de ganancia de nitrógeno. Entre estos se encuentran los anteriores Humedad y Temperatura, pero además el nivel de CO<sub>2</sub> es muy importante y la luz solar (14).

Sinha, mencionado por Monegat, constato que la disminución en la intensidad de la luz, en la soya, redujo el número de nódulos y también la fijación del nitrógeno, siendo este efecto más sensible en el momento de la floración y en las fases iniciales de llenado de las vainas, ocurriendo lo contrario con una iluminación adicional (8).

#### **D. Fotosíntesis**

Todos los factores que aumenten el ritmo de la fotosíntesis, hacen que los carbohidratos, puedan aumentar la actividad de nodulación. Neyra, citado por Monegat, determinó que el cierre de los estomas y la sombra disminuyen la simbiosis, mientras el aumento del CO<sub>2</sub> en la atmósfera aumenta la fijación (8).

#### **3.1.4.2 Factores edáficos**

##### **A. Materia Orgánica**

Sinha, citado por Monegat, observó que la aplicación de estiércol aumentaba el número de nódulos y su peso (8).

##### **B. Humedad**

La deficiencia hídrica afecta el funcionamiento de los nódulos. Según Box, citado por Monegat, los rizobios son bacterias muy resistentes, tanto al exceso como a la falta de agua. La sequía prolongada reduce la efectividad vital, movimiento y fijación, pero se rehace con facilidad (8).

##### **C. Relación C/N del suelo**

Cuando más amplia es la relación carbono / nitrógeno (C/N) en el suelo, mayor será la nodulación y mayor será la distribución de los nódulos en el sistema radicular (8).

##### **D. Acidez y Alcalinidad**

Según la FAO, citado por Monegat, la mayoría de las leguminosas, con excepción del caupí, no nodulan con pH bajo, independiente de la concentración de aluminio (8) White et. al., citado también por Monegat, presenta los límites de tolerancia para las diferentes especies de *Rhizobium*: alcalinidad: pH 9.6; acidez: pH = 5.0 (*Rhizobium meliloti*) y pH = 3.2 - 4.2

(*Rhizobium lupini* y *Rhizobium japonicum*). El pH y la toxicidad del aluminio afectan el proceso de infección e iniciación de los nódulos.

#### **E. Macro y micro elementos**

Suelos pobres en nutrientes afectan el desarrollo de las plantas y también el proceso de fijación. Según la FAO, el crecimiento óptimo y fijación de nitrógeno depende de la disponibilidad adecuada de los siguientes elementos: P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Bo, Zn, Co, Mo, y Cl (8).

La presencia de nitrógeno mineral no solo inhibe el desarrollo de nódulos, sino también la fijación de nitrógeno, cuando está presente en dosis elevadas (11).

El potasio ejerce una influencia en el proceso de fijación de nitrógeno, algunas experiencias sugieren que aumenta el proceso por incrementar el fotosintato disponible para la asimilación del amonio y la producción de energía en los nódulos. La deficiencia de microelementos es también un factor limitante, tanto en la sobrevivencia de las bacterias como en la función nodular, por su participación en la leghemoglobina (Fe y Co) y de la nitrogenasa (Fe, Mo y S), función vacuolar (Bo) y desarrollo nodular (Cu y Zn) (6, 8).

#### **F. Salinidad**

Sinha, citado por Monegat, observó que niveles superiores de sales repercutieron nocivamente en el porcentaje y velocidad de germinación, crecimiento de la planta y formación de nódulos (8).

#### **G. Productos tóxicos no compatibles**

La FAO, relaciona los siguientes productos tóxicos con los rizobios y no compatibles con la inoculación: metales pesados: Mo y Co en semillas pequeñas, funguicidas (Captan, Carboxin, Chloranil, PCNB, Thiabendazole, Tirad, con exposición prolongada). Datos recientes indican que la presencia de simacina y de ciertos insecticidas provocan una reducción del número de rizobios y una nodulación y fijación deficientes (8).

### **3.1.4.3 Factores Biológicos**

La sobrevivencia de los rizobios en el suelo, también como su multiplicación en plantas de la familia Fabaceae, puede ser afectado por la presencia de otros microorganismos del

suelo. De la misma forma que hay microorganismos que promueven el desarrollo de los rizobios, hay otros que tienen un efecto perjudicial sobre estas bacterias (11).

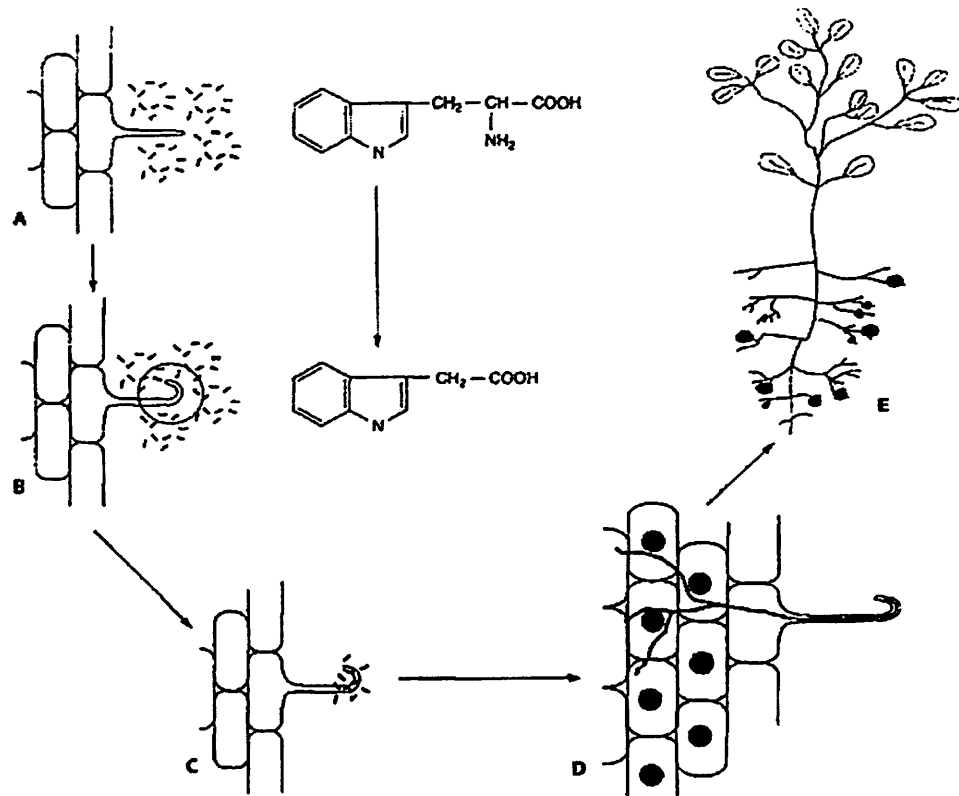
Otros organismos afectan la nodulación y fijación del nitrógeno, como los microorganismos nativos (bacterias, actinomicetos y hongos del suelo) incompatibles con los rizobios. También la producción de antibióticos por actinomicetos o la presencia de virus bacteriófagos, nematodos y larvas de insectos afectan la nodulación (8).

### **3.1.5 Nodulación**

#### **3.1.5.1 Mecanismos y formación de nódulos**

Al surgir la primera hoja, la planta segrega una sustancia estimulante por medio de las raíces (Flavonoides o Isoflavonoides, (11)), causando la multiplicación de las bacterias próximas, que a su vez, al producir un principio activo (secreciones hormonales del tipo auxinas) provoca el encurvamiento del pelo más próximo, punto donde ocurre la penetración del rizobio en las células de la planta. Después de la entrada de un rizobio y su multiplicación, se forma un hilo (filamento) de infección, que penetra en la corteza de la raíz, infestando otras células, aumentando la división y crecimiento del embrión del nódulo (8).

Este proceso es resultado de complejas interacciones entre los rizobios y las raíces de una leguminosa (12). Como se puede observar en la FIGURA 3 a continuación:



**FIGURA 3. interacción entre los rizobios y la raíz de una planta leguminosa: infección y formación de nódulos.** (A) Atracción quimiotáctica de los rizobios por los pelos radicales. Mediados por las lectinas, algunos se adhieren a la pared de las células de dichos pelos radicales. El triptófano es un componente de los exudados de estos pelos. (B) Los rizobios transforman el triptófano en ácido indolacético (AIA). Por acción de esta hormona de crecimiento los pelos radicales se enroscan o se ramifican alrededor de los rizobios. La poligalacturonasa secretada por el rizobio, o quizá por la planta, despolimeriza y reblandece la pared de las células de los pelos radicales. (C) Los rizobios, penetran en los pelos radicales. El núcleo de la célula del pelo radical dirige el desarrollo del tubo de infección. (D) El tubo de infección es un tubo constituido por una membrana celular envuelta por una pared celulósica. Crece dentro del córtex radicular e infecta algunas células tetraploides que proliferarán formando los tejidos del nódulo. Los rizobios son liberados del tubo de infección, pierden su forma bacilar y se transforman en bacteroides irregulares con capacidad fijadora de nitrógeno. (E) Planta de leguminosa nodulada. [Tomada de Atlas y Bartha (3)]

### 3.1.5.2 Formas y Anatomía de los Nódulos

Las formas más frecuentes de nódulos se pueden observar en la FIGURA 4. El tamaño es muy variable, desde los nódulos muy grandes de *Dolichos lablab* y de algunos *Phaseolus* y *Pisum*, hasta los pequeños de lenteja y haba.

Según White, citado por Monegat, las plantas anuales presentan generalmente nódulos grandes, carnosos, esféricos, periformes o en abanico, aislados o en grupos, distribuidos principalmente alrededor de las raíces axonomorfas, o de las laterales primarias. Por otro lado, en las especies perennes o bianuales existe la tendencia de los mismos a ser pequeños, alargados, en racimos y muy distribuidos, formándose otros en las partes jóvenes del sistema radicular. El crecimiento nodular puede ser causado por infecciones de nematodos de los

géneros *Heterodera* y *Anguillulina*, que producen pequeñas vejigas o nudos, o del género *Agrobacterium tumefaciens*, que ocasiona hinchazón en el cuello de las raíces o cerca de las mismas, siendo estas lesiones morfológicamente irregulares (8).

El síntoma distintivo del ataque de nematodos ocurre en las raíces por *Meloidogyne* *sP.* son hinchamientos irregulares llamadas agallas, aún cuando esta mal dicho en algunos casos se les llama nódulos (2)

Según Box, citado por Monegat, la anatomía del nódulo es bastante constante, presentando una zona central, medular, ocupada por las bacterias y una corteza muy vascularizada, cubierto todo el conjunto por la peridermis, cuya superficie puede ser rugosa, lisa o escamosa (8).

La diferencia entre el ataque de nematodos y el de las bacterias nitrificantes es la anatomía bastante constante en el caso de las bacterias, no así en el caso de ataque de nematodos es bastante irregular la forma de los nódulos o mejor nombradas agallas (2) En la siguiente FIGURA 4 se encuentran diferentes tipos de tipos de nodulaciones de la familia Fabaceae.



**FIGURA 4. Tipos de nodulaciones en diferentes plantas de la familia Fabaceae (leguminosas):** [1] arveja , [2] frijol común; [3] gandul; [4] frijol lablab; [5] lupino; [6] haba; [7] lenteja; [8] Maní; [9] soya; [10] guisante; [11] garbanzo; [12] caupi; [13] frijol mungo. [tomada de Monegat (8) ]

### **3.1.5.3 Indicador de Efectividad**

Los nódulos aparecen entre 21 a 28 días, en condiciones de campo, el tiempo requerido es variable dependiendo la especie y el tamaño de la semilla.

Según Galetti, citado por Monegat, para comprobar el grado de simbiosis, en la práctica basta con arrancar una planta de mediana edad con un terrón de suelo, deshaciéndolo en agua tibia, para evitar el desprendimiento de los nódulos. Una nodulación pequeña pero vigorosa (nódulos grandes) localizada próxima al cuello y a la raíz principal, caracteriza una población eficiente de rizobios y una buena inoculación del suelo (8). Según la FAO, el color rosado intenso de los nódulos (parte interna) en la fase de floración indica la efectividad de la simbiosis, tomando un color verde al envejecer, mientras que los nódulos no efectivos presentan un color blanco y verde pálido, sin cambiar el color con la edad (8).

Esta coloración algunas veces rosada y otras coriata a café o negra, se debe a la presencia del pigmento de la Leghemoglobina (leguminoglobina), el cual caracteriza a un nódulo eficiente, maduro, en fase activa de fijación de nitrógeno y presencia abundante de rizobios (6).

### **3.1.6 Metodología para determinar el contenido de nitrógeno en leguminosas**

Son varios componentes que juntos, presentan un cuadro completo del contenido de nitrógeno de una leguminosa mejoradora del suelo. Los más importantes de estos componentes son:

#### **3.1.6.1 Estimado de la biomasa**

Esta técnica consiste en muestrear la biomasa justo antes que las plantas de leguminosas sean cortadas o removidas de cualquier otra forma. Dependiendo del experimento y del nivel de organización, puede recolectarse muestras de biomasa el mismo día que se corta el experimento.

Se toma una pequeña submuestra, de cada tratamiento, guardándola en una bolsa plástica limpia y seca marcada con el nombre del experimento, número de tratamiento, fecha y otra información pertinente. Esta submuestra se usará para determinar el porcentaje de humedad de la biomasa de la leguminosa en el momento en que es cortada. Se puede usar una bolsa de papel si la muestra no está muy húmeda y si se lleva inmediatamente al

laboratorio para pesar las muestras. De otra forma las muestras en la bolsa de papel podrían secarse antes de ser pesadas (15).

Sacudiendo la suelo de las muestras y pesando cada una en una escala con exactitud de 0.01 kg, si es posible. Se pesa la submuestra de la bolsa, luego el resto del peso es de la bolsa la cual se pesa también. La submuestra de la bolsa plástica se coloca en una bandeja o bolsa de papel marcada. Secándola en un horno a 60° ó 70 °C por al menos 24 horas, luego se pesa de nuevo. Se debe cuidar poner las muestras secas en un lugar seco y seguro (15). Determinando entonces el porcentaje de materia seca (m.s.) de la muestra de la siguiente forma:

$$(1 - \frac{\text{peso fresco} - \text{peso seco}}{\text{peso fresco}}) \times 100 = \% \text{ materia seca}$$

Para un estimado más exacto de la biomasa, se extrae también las raíces de la leguminosa. (15).

### 3.1.6.2 Determinado de la cantidad de nitrógeno en el follaje

Hay varios métodos para determinar el contenido de nitrógeno en el follaje. El mejor método es analizar las raíces y el resto de la planta separadamente por el procedimiento Kjeldahl (ver CUADRO 15A del ANEXO).

Los análisis de laboratorio requieren moler las muestras hasta cierta fineza. Usando un pequeño molino de martillo. Si no hay un pequeño molino disponible, no use uno grande ya que se pierde mucha muestra en el proceso. Si los residuos de plantas se rompen fácilmente, deben molerse con un mortero hasta que tengan la consistencia de harina gruesa. Esto no funcionará con tallos y raíces.

Se envían los materiales al laboratorio en sobres pequeños bien sellados o en una bolsa plástica fuerte conteniendo 20 a 100 gramos de tejido de las plantas. Marcadas claramente las muestras con el nombre y un número de identificación de la muestra. Guardando una muestra idéntica en un lugar seco y seguro para los archivos, o lugar de almacenamiento para duplicado de muestras, en caso que algo le pase a la primera muestra, o se necesite analizar de nuevo (15).

### 3.1.6.3 Contenido total de nitrógeno

Se multiplica la materia seca total de la parte superior de la leguminosa en kg /ha por el porcentaje de N (expresado como  $x/100$ ), se suma al total de materia seca de las raíces, multiplicado por un porcentaje de N, para determinar el contenido total de N de la leguminosa en kg /ha. Y si la planta se cultiva una vez por año es el total de nitrógeno en Kg / ha y año (15). En el siguiente CUADRO 3 se encuentran diferentes especies de leguminosas y sus respectivas cantidades de nitrógeno aportado en kg/Ha/año según literatura especializada en el tema.

**CUADRO 3. Cantidad de nitrógeno aportado por la biomasa de diferentes especies leguminosas según diferentes autores.**

Especies	N2 aportado kg/Ha/año
<i>Arachys hypogaea</i>	48, 47 33-111, 50-297
<i>Centrosema pubescens</i>	112
<i>Crotalaria sp.</i>	154
<i>Canavalia ensiformis</i>	57-90
<i>Cajanus cajan</i>	41-90, 41-280
<i>Glycine max</i>	57-95, 17-124, 66, 17-369, 50-150, 65
<i>Glycine javanica</i>	160-450
<i>Lupinus sp.</i>	171, 50-125, 128, 170, 150-169
<i>Lathyrus sp.</i>	82
<i>Medicago sativa</i>	220, 150-250, 128-300, 154-300
<i>Phaseolus vulgaris</i>	45, 30-50
<i>Pisum sativum var. arvense</i>	57, 85, 46
<i>Stylobium aterrimum</i>	157
<i>Stylosanthes gracilis</i>	30-196
<i>Trifolium repens</i>	117, 104-220
<i>Trifolium hybridum</i>	135, 104-220
<i>Trifolium incarnatum</i>	107, 80, 105, 104-220
<i>Trifolium subterraneum</i>	80, 104-220
<i>Vigna unguiculata</i>	102, 50-100, 105, 84, 73-240, 73-354
<i>Vicia sativa</i>	91, 90, 85, 54-190
<i>Vicia faba</i>	100

Fuentes: Allen (1966); Box (1961); Buckman y Brady (1984); Correa (1926); Cubero y Moreno (1983); Franco y Souto (1984); PROAGRO/PIONEER (1976); Sinha (1978). [Tomado de Monegat (8)]

## 3.2 Marco Referencial

### 3.2.1 Ubicación y descripción del sitio experimental

Los campos del Centro Experimental Docente de Agronomía se sitúan al sur de la ciudad capital de Guatemala y se localizan geográficamente a 14° 35' 11" latitud norte y 90° 35' 58" longitud oeste, y a una altitud media de 1,502 metros sobre el nivel del mar (16).

### 3.2.2 Condiciones climáticas

La ciudad de Guatemala se encuentra dentro de la zona de vida: Bosque Húmedo Subtropical templado (Bh – st) (16).

Las condiciones registradas por INSIVUMEH citadas en SOSA CORDÓN, 1991 para el CEDA son las siguientes:

- A. Precipitación media anual: 1,216.2 mm. Distribuidos en 110 días, en los meses de mayo a octubre.
- B. Temperatura media anual: 18.3 °C.
- C. Humedad relativa (media): 79%
- D. Insolación promedio: 6.65 horas/día.
- E. Radiación: 0.33 cal/cm<sup>2</sup>/min. (16).

### 3.2.3 Características del material experimental

#### 3.2.3.1 Tefrosia

*Tephrosia lanata* Mercado. & Gal.

Se encuentra comúnmente en lugares pedregosos y secos, entre los 1,200 - 1,800 metros sobre el nivel del mar; Zacapa; Chiquimula; Jalapa. Occidente y sur de México (17).

Es un arbusto o hierba erecta, de un metro de alto o menos, los tallos son fuertes, las hojas de 5-9, oblongas a ovals, floración; rosada o arriba - morado, 12-14 mm. de largo; fruto en legumbre 3-4 cm. de largo, 6 mm. ancho, densamente vellosa (15) ( FIGURA 11A).

### 3.2.3.2 Chipilín

*Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn.

Crece en lugares Húmedos, laderas frecuentemente rocosas, abundantemente en los campos cultivados, desde los 2,300 metros o menos; Petén; Alta Verapaz; Zacapa; Chiquimula; Sololá; Suchitepéquez; Retalhuleu; Quetzaltenango; Huehuetenango. El Occidente y sur de México; de El Salvador a Costa Rica.

Las plantas esencialmente son anuales pero frecuentemente persisten por más de un año, porte vertical, a veces muy ramificada, regularmente de un metro de alto o más, los tallos son rojos frecuentemente oscuro; estípules presente o ninguna; las hojas son - pecioladas, con 3 cuadrilongo del follaje redondos o elípticos, 1-3 cm. flores con la corola nítida amarilla (17) (FIGURA 10A).

Planta alimentaria importante de Guatemala, y es probablemente de las especies de *Crotalaria* mas usada como alimento (17).

### 3.2.3.3 Lupino

*Lupinus elegans* I-TBK.

Se encuentra algunas veces sobre laderas, pero muy frecuentemente sobre sabanas o laderas abiertas, comúnmente en donde termina el bosque, de 1,500 a 3,800 metros sobre el nivel del mar; Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Huehuetenango, San Marcos, el Sureste de México; Panamá (17).

Una planta erecta perenne, de un metro de altitud mas o menos, con tallo muy ramificado, los tallos mayormente delgados, hojas pequeñas, las flores tienen 13-14 mm largo, color azul o morado; (FIGURA 12A) fruto en legumbre (17).

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo General

- Generar información en cuanto a la cantidad de nitrógeno aportada al suelo por las especies leguminosas *Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn., *Tephrosia lanata* Mercado. & Gal. y *Lupinus elegans* I-TBK. a los 78 días después de la siembra.

### 4.2 Objetivo Específico

- Identificar cual de las especies, Tefrosia (*Tephrosia lanata*), Chipilín (*Crotalaria longirostrata*), Lupino (*Lupinus elegans*), aporta la mayor cantidad de nitrógeno al suelo. Cuando se cultiva en suelo con diferentes contenidos de materia orgánica, a los 78 días después de la siembra, en condiciones de invernadero.

## 5. HIPÓTESIS

- Las tres especies de leguminosas estudiadas aportan la misma cantidad de nitrógeno al suelo a los 78 días después de la siembra en condiciones de invernadero.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 Factores evaluados

#### a. Cambio de materia orgánica (parcela grande)

Símbolo	Descriptor
R:	Suelo con 6% de materia orgánica
M:	Suelo con 4% de materia orgánica
P:	Suelo con 2% de materia orgánica
T:	Arena como testigo

#### b. Leguminosas (parcelas pequeñas)

Símbolo	Descriptor
1:	Tefrosia
2:	Chipilín
3:	Lupino

### 6.2 Definición de los tratamientos

En el siguiente CUADRO 4 se presenta la definición de los 12 tratamientos que se evaluaron, así como su respectiva codificación.

CUADRO 4. Descripción de los 12 tratamientos evaluados a nivel de invernadero.

Tratamiento	Representación	Descripción
1	R1	Tefrosia en suelo con 6% de MO.
2	M1	Tefrosia en suelo con 4% de MO.
3	P1	Tefrosia en suelo con 2% de MO.
4	T1	Tefrosia en arena (testigo)
5	R2	Chipilín en suelo con 6% de MO.
6	M2	Chipilín en suelo con 4% de MO.
7	P2	Chipilín en suelo con 2% de MO.
8	T2	Chipilín en arena (testigo)
9	R3	Lupino en suelo con 6% de MO.
10	M3	Lupino en suelo con 4% de MO.
11	P3	Lupino en suelo con 2% de MO.
12	T3	Lupino en arena (testigo)

### 6.3 Diseño experimental

En esta investigación se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo en parcelas divididas, utilizando 4 niveles para la parcela grande y 3 niveles para las parcelas pequeñas haciendo un total de 12 tratamientos distribuidos en 4 repeticiones.

### 6.4 Unidad experimental

La unidad experimental la constituyo una maceta de 22 centímetros de diámetro de plástico con una capacidad de 2.5 Kg. de suelo.



FIGURA 5. Fotografía de la maceta empleada como unidad experimental.

## 6.5 Croquis de campo

Los tratamientos se distribuyeron en el experimento de la siguiente manera:

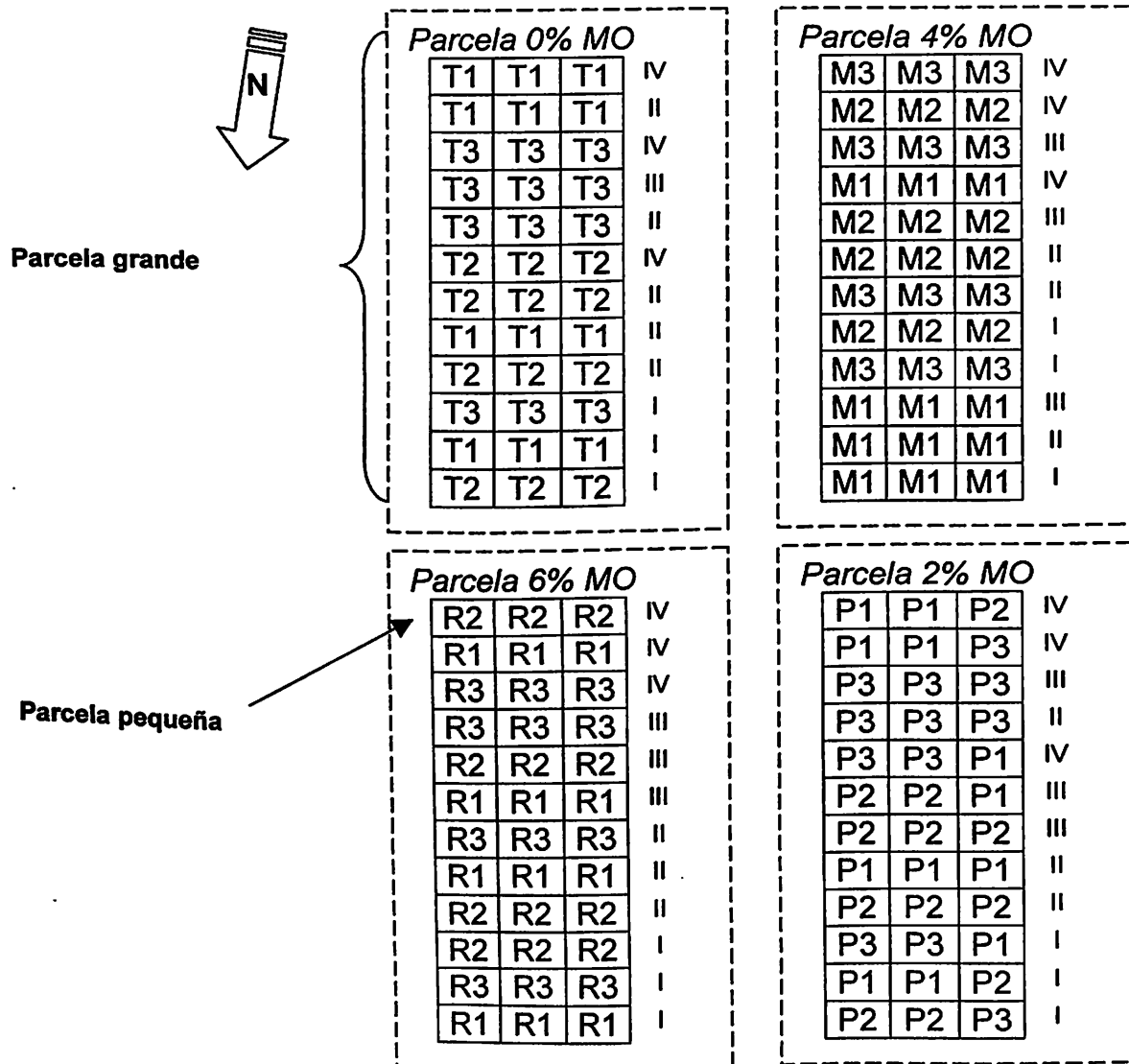


FIGURA 6. Distribución de los tratamientos en el invernadero en parcelas divididas.

## 6.6 Variables de Respuesta

### 6.6.1 Variable básica

- La cantidad de nitrógeno de la parte aérea para cada una de las muestras expresada en gramos.

## 6.6.2 Variables auxiliares

- El peso seco de la parte aérea, después de 48 hr. de secado a 65° C expresado en gramos.
- El peso en fresco de parte aérea, expresado en gramos.

## 6.7 Manejo del Experimento

- El experimento se realizó en macetas en los invernaderos del Centro Experimental Docente de Agronomía.

### 6.7.1 Preparación del suelo para las macetas

Previo a preparar los sustratos para las macetas se envió muestras de los materiales al laboratorio, para calcular el contenido de materia orgánica. Obteniendo los resultados que se presentan en el siguiente CUADRO 5 y 6.

**CUADRO 5. Resultados del análisis de laboratorio de la broza, que se usó en la investigación.**

MUESTRA	%NT	%MO	pH	ppm		%		ppm				C/N
				P	K	Ca	Mg	Cu	Zn	Fe	Mn	
Broza	0.72	11.80	7.6	88	0.21	2.87	0.65	115	1125	405	905	9:1

FUENTE: Laboratorio de análisis de suelos de la FAUSAC "Ing. Salvador Castillo Orellana"

**CUADRO 6. Resultados del análisis de laboratorio del suelo y arena que se usaron en la investigación.**

MUESTRA	%NT	% M.O.	pH	ppm		meq/100 gr		ppm				C/N
				P	K	Ca	Mg	Cu	Zn	Fe	Mn	
Suelo	-	2.28	-	1.31	288.0	8.42	2.52	2.0	2.5	11.5	12.5	-
Arena	-	-	-	104	30.0	2.81	0.31	0.5	12.5	13.0	3.5	-

FUENTE: Laboratorio de análisis de suelos de la FAUSAC "Ing. Salvador Castillo Orellana"

De los cuadros 5 y 6, se puede interpretar que la broza utilizada contiene una gran cantidad de Zn, 1,125 ppm, y 115 ppm de cobre, factor que pudo deberse al origen de la materia orgánica proveniente del CEDA, ya que en estos campos se utilizan funguicidas y otros

elementos, además acá se deposita basura de laboratorios donde se utiliza una gama muy amplia de compuestos químicos.

### **Nivel óptimo de fósforo**

El fósforo es un elemento que en el suelo se toma como presente y sin problemas para el desarrollo de plantas si se encuentra entre 12 y 16 ppm, para el caso del suelo del cuadro 6, se puede observar deficiencia de fósforo, ya que solamente hay 1.31 ppm, cosa inversa en la arena que presentó un alto contenido de fósforo de 104 ppm.

#### **a. Suelo con 6% de contenido medio de materia orgánica**

Para la preparación del sustrato que representará un suelo con 6% de materia orgánica se obtuvo suelo proveniente de San Lucas Sácatepequez, teniendo el cuidado que fuera poco pesado y el análisis de laboratorio mostró que contenía el 2.28 % de materia orgánica ver CUADRO 5 y CUADRO 6.

La fuente de materia orgánica fue broza que se obtuvo del Centro Experimental Docente de Agronomía, un sector de bosque donde se ha preparado Bocashi. El análisis de laboratorio muestra que contenía un 11.8% de materia orgánica ver CUADRO 5 y CUADRO 6.

Para calcular el sustrato al 6% de materia orgánica se determinó que el suelo poseía un 2% de MO y la broza un 10% de MO, entonces en 45.36 Kg. de broza encontramos 4.54 Kg. de MO. Para llenar 36 macetas con este sustrato se necesitaban 81.65 Kg. Se realizó los cálculos y la mezcla teóricamente de 6% de materia orgánica se le agregó a 81.65 Kg. de suelo 32.66 Kg. de broza. Se tuvo el cuidado de mezclar bien homogenizando la muestra en un Nylon.

Para completar el fósforo (P) faltante que según el análisis de laboratorio estaba deficiente se le agregó 100 partes por millón y para esto se mezcló en 1.08 litros de agua 0.6210 gr. de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  aplicándole luego 10 ml. de esta solución a cada una de las 36 macetas.

#### **b. Suelo con 4% de contenido medio de materia orgánica**

Para preparar este sustrato se empleó los mismos materiales que en el anterior (6%), y para ello se estimó que teóricamente para aumentar a 4% de materia orgánica se le debía

agregar a 81.65 Kg. de suelo 16.33 Kg. de broza (la mitad del anterior). Cuidando de hacer bien la mezcla.

Para completar el fósforo también se aplicó 10 ml. de la solución de agua +  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  a las 36 macetas.

#### c. Suelo con 2% de contenido medio de materia orgánica

Se tomó el dato de laboratorio como válido del 2% de materia orgánica, por lo que solo se le agregó a las 36 macetas 10 ml. de la solución de agua +  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Para completar el fósforo con 100 partes por millón. Para obtener un sustrato homogéneo todos fueron cernidos incluyendo este.

#### d. Arena como testigo

Para lograr un sustrato sin materia orgánica se utilizó arena lavada, a la que se le agregó la solución KNOP sin N. Para esto se utilizó las siguientes sales minerales en proporción de 0,25 gr. de  $\text{KPO}_4\text{H}_2$ , 0,25 gr. de  $\text{Mg SO}_4 7\text{H}_2\text{O}$ , 1,0 gr. de  $\text{Ca SO}_4 2\text{H}_2\text{O}$ , 0,25 de KCl e indicios de  $\text{FeSO}_4 4 \text{H}_2\text{O}$ . Y una gota de la solución A-Z Hoagland, que equivale a 0,055 gr. de  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ; 0,028 gr. de KI; 0,028 gr. de K Br; 0,055 gr. de  $\text{TiO}_2$ ; 0,028 gr. de  $\text{SnCl}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0,028 gr. de LiCl; 0,389 gr. de  $\text{MnCl}_2 + 4\text{H}_2\text{O}$ ; 0,614 gr. de  $\text{B}(\text{OH})_3$ ; 0,055 gr. de  $\text{ZnSO}_4$ ;  $\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$ ; 0,055 gr. de  $\text{NiSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,55 gr de  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2+6\text{H}_2\text{O}$ . por litro de agua.

Luego de preparar los sustratos, y para asegurar las proporciones de materia orgánica y elementos se realizó el análisis de laboratorio de los sustratos al 2, 4 y 6 % de MO teóricos respectivamente, obteniendo los siguientes resultados, ver el siguiente CUADRO 7. El análisis de este cuadro se encuentra detallado en la discusión de los resultados.

**CUADRO 7. Resultados del análisis de laboratorio de los sustratos con 2, 4 y 6 % de contenido de M.O. usados en la evaluación de las tres leguminosas.**

MUESTRA	%N	% M.O.	pH	Microgr./ml		Meq/100 ml de suelo						C/N
				P	K	Ca	Mg	Cu	Zn	Fe	Mn	
2% MO	0.16	1.92	6.8	17.23	465	12.48	3.13	2.0	3.5	13.5	6.5	7:1
4% MO	0.22	3.83	7.2	19.76	465	16.54	3.55	1.5	31.5	8.5	12.5	10:1
6% MO	0.28	6.23	7.0	21.17	385	18.41	3.34	1.0	60.0	8.0	16.5	13:1

FUENTE: Laboratorio de análisis de suelos de la FAUSAC "Ing. Salvador Castillo Orellana"

### **6.7.2 Preparación del suelo**

Todas las macetas usadas fueron del mismo tamaño, razón que se aprovecho para llenarlas por peso con 2.27 Kg. de los diferentes sustratos, excepto las macetas donde se uso arena que solo se lleno la maceta sin peso. Quedando el sustrato a 3 cm del borde.

Para desinfectar los sustratos se calentó 15 galones de agua, a punto de ebullición y luego se saturo cada una de las macetas con agua hirviendo.

Luego de enfriarse se agrego los 10 ml. de la solución de fósforo a las macetas de 2, 4 y 6 % de materia orgánica. Para evitar deficiencia de este elemento.

Después se estableció todas las macetas por parcela aleatorizando la disposición de las parcelas grandes y después de las leguminosas dentro de cada parcela grande, se etiqueto cada maceta con su numero de tratamiento y repetición.

### **6.7.3 Manejo agronómico**

Se agregaron 4 semillas escarificadas y embebidas de agua por maceta, para cada una de las leguminosas evaluadas, en todos los tratamientos y a los tres días de germinadas se seleccionó una planta. La fecha de siembra fue el 17 de diciembre del 2002.

### **6.7.4 Obtención de la semilla**

La colecta de la semilla se realizo en el mes de octubre con la finalidad de obtener semillas frescas con alta viabilidad, la Tefrosia se colecto en el CEDA proveniente de una finca cafetalera del sur-occidente, el Chipilín se colectó en los campos del CEDA, proveniente de la Costa Sur y el Lupino se colectó en Tecpan, Chimaltenango a la orilla de la carretera en el kilómetro 85 de la carretera interamericana. Es importante mencionar que se realizó una prueba de germinación para verificar el porcentaje de cada semilla, fue necesario agilizar el proceso de germinación a través de una escarificación de las semillas con un cortaúñas se rompió la testa para que el agua llegará al endospermo.

Junto con la semilla también se colectó nódulos de las plantas leguminosas para asegurar la presencia de la bacteria con que cada una en el campo convive, y llevarlas a las macetas. Para ello se guardaron en refrigeración hasta el momento de la siembra del experimento.

### **6.7.5 Riego**

El riego fue con frecuencia de cada 3-4 días, utilizando para esto agua potable y del pozo del CEDA. La forma de regar fue mojando bien cada una de las macetas a capacidad de campo sin mojar el follaje de la planta.

Para el control de malezas en las primera tres semanas, se realizó en forma manual para evitar interferencias. No fue necesario controlar ataques de patógenos u otras plagas, ya que las plantas crecieron sanas.

### **6.7.6 Inoculación del Rizobium**

A los dos días de sembradas las plantas leguminosas se inoculó todas las macetas con un macerado de los nódulos de las tres diferentes plantas evaluadas de acuerdo a la especie evaluada. Incluyendo todos los tratamientos (arena).

### **6.7.7 Cosecha**

La toma de datos se realizó a los 78 días después de sembrado (dos meses y medio). Se tomó el peso en fresco de la parte foliar, y luego en bolsas de papel identificadas con el número de tratamiento y repetición. Luego se procedió a secar la parte aérea, en un horno a 65° C por 48 Hrs.

Después de 48 horas de secado se tomo los pesos del material foliar y se preparó para el Análisis de laboratorio de semimicro Kjeldhal en bolsas de plástico etiquetadas enviando una muestra por cada uno de los tratamientos y sus repeticiones (48 muestras) de la parte foliar.

## **6.8 Análisis de la información**

Para analizar los datos de cada variable (peso seco y nitrógeno total) de respuesta de los doce tratamientos para la medición del contenido de nitrógeno aportado por el follaje de cada una de las leguminosas evaluadas en un diseño completamente al azar con arreglo en parcelas divididas, utilizando el análisis de varianza.

El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_j + \eta_{ij} + \delta_k + (\tau\delta)_{jk} + e_{ijk}$$

- $Y_{ijk}$  = Valor de la característica en estudio
- $\mu$  = Media general
- $\tau_j$  = Efecto del efecto del tratamiento j-esimo contenido de MO. sobre la parcela grande
- $\eta_{ij}$  = El elemento aleatorio sobre de error sobre la parcela grande
- $\delta_k$  = Efecto del subtratamiento k-esimo leguminosa dentro de la parcela grande
- $(\tau\delta)_{jk}$  = Interacción entre el tratamiento j-esimo contenido de MO. y el subtratamiento k-esimo leguminosa
- $e_{ijk}$  = Error asociado a la parcela pequeña

El análisis de varianza del diseño completamente al azar, en parcelas divididas, se utilizo el paquete de análisis estadístico SAS (Statistical Analysis System) (Ver en ANEXOS las hojas de salida de SAS) Obteniéndose las tablas de ANDEVA y Pruebas de TUKEY Con las variables cuantitativas de: peso fresco y peso seco del follaje, la cantidad de nitrógeno aportado por la parte foliar de las leguminosas y el dendrograma del comportamiento del nitrógeno total aportado por las tres leguminosas.

Al tratamiento de la parcela pequeña de Lupino como presentó diferencia altamente significativa, se le realizó la prueba múltiple de medias (Tukey), para determinar cuál o cuales tratamientos proporcionaron un mayor efecto sobre las dos variables de respuesta (peso seco y nitrógeno total)

Con los datos obtenidos de las variables: peso seco y nitrógeno total por planta se realizó una Regresión Lineal, para observar el grado de asociación.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Peso seco foliar por planta.

Según el ANDEVA (ver CUADRO 8), se obtuvo diferencia altamente significativa en porcentaje de materia orgánica y en las leguminosas y significativa entre la interacción entre parcela grande y pequeña (MO\*LEG). Siendo la especie Lupino la que mayor cantidad aporta de peso seco foliar por planta.

CUADRO 8. Resultados del ANDEVA del peso seco foliar de los 12 tratamientos evaluados.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Sumas de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada
% MO	3	323.63	107.88	178.50**
Error A	12	10.83	0.90	1.49
leguminosa	2	18.00	9.00	14.89**
MO*LEG	6	25.45	4.24	7.02*
Error B	24	14.50	0.60	
Total	47	392.41		

\*\* = altamente significativo

\* = significativo

Coeficiente de variación 17.75%

El contenido de materia orgánica afecta el peso seco con relación a la especie de leguminosa, la prueba de medias de TUKEY (Ver CUADROS 9 Y 10), nos permite identificar a Lupino como la especie que aporta la mayor cantidad de peso seco foliar (9.36 gramos de peso seco / planta) muy superior a Chipilín y Tefrosia. Y al contenido de materia orgánica del 6% como el más aporte realizó de materia seca. Esto se ve claramente en la GRAFICA 1.

**CUADRO 9. Prueba de medias de TUKEY, para la variable peso seco foliar, por leguminosas. (gr./planta)**

LEGUMINOSA	peso seco / planta	Grupo TUKEY
Lupino	5.14	A
Chipilín	4.36	B
Tefrosia	3.64	C

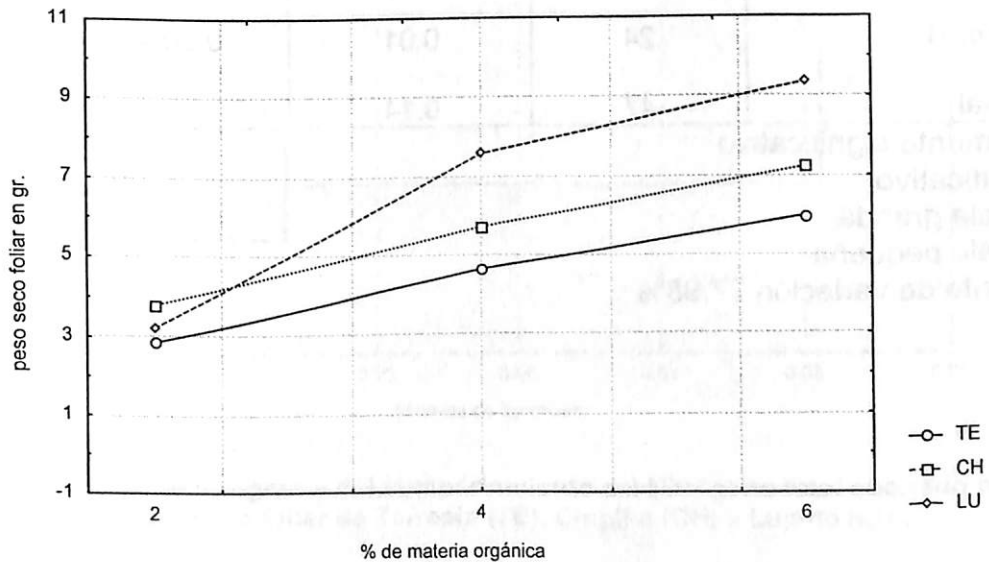
**CUADRO 10. Prueba de medias de TUKEY, para la variable peso seco foliar, por contenido de M.O. (gr./planta)**

Contenido MO	peso seco / planta	Grupo TUKEY
6%	7.52	A
4%	5.98	B
2%	3.29	C

En el siguiente CUADRO 11, se puede observar el efecto de la interacción entre la materia orgánica y las leguminosas, donde la prueba de TUKEY para esta interacción nos revela que Lupino sembrado con 6% de materia orgánica constituyó la combinación que aportó la mayor cantidad de peso seco por planta y estadísticamente no se parece a Lupino con el 4% de materia orgánica.

CUADRO 11. Prueba de medias de TUKEY, para la variable peso seco foliar, para la interacción contenido de M.O. por Leguminosa (gr./planta)

Interacción M.O.* LEG	Yi..	Grupo TUKEY
06LU	9.36	A
04LU	7.57	B
06CH	7.22	BC
06TE	6.00	D
04CH	5.72	DE
04TE	4.64	EF
02CH	3.79	G
02LU	3.22	G
02TE	2.85	G



GRAFICA 1. Comparación del peso seco foliar de Tefrosia (TE), Chipilín (CH) y Lupino (LU) en 2, 4 y 6% de materia orgánica.

## 7.2 Concentración de Nitrógeno foliar por planta.

Según el ANDEVA (ver CUADRO 12), se obtuvo diferencia altamente significativa para el porcentaje de materia orgánica y en las especies de leguminosas. Encontrando también diferencia significativa en la interacción entre parcela grande y pequeña (materia orgánica\*leguminosa). Al efectuar las pruebas de TUKEY se observó que entre medias de Chipilín y Lupino no existe diferencia estadística significativa. Estos se puede observar en los valores promedio de las medias (ver CUADRO 13)

CUADRO 12. Resultados del ANDEVA del nitrógeno total foliar/ planta, aportado por los 12 tratamientos.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Sumas de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada
% MO	3	0.10	0.03	64.13**
Error A	12	0.002	0.0002	0.42
leguminosa	2	0.02	0.008	17.19**
MO*LEG	6	0.013	0.002	4.45*
Error B	24	0.01	0.0004	
Total	47	0.14		

\*\* = altamente significativo

\* = significativo

A= parcela grande

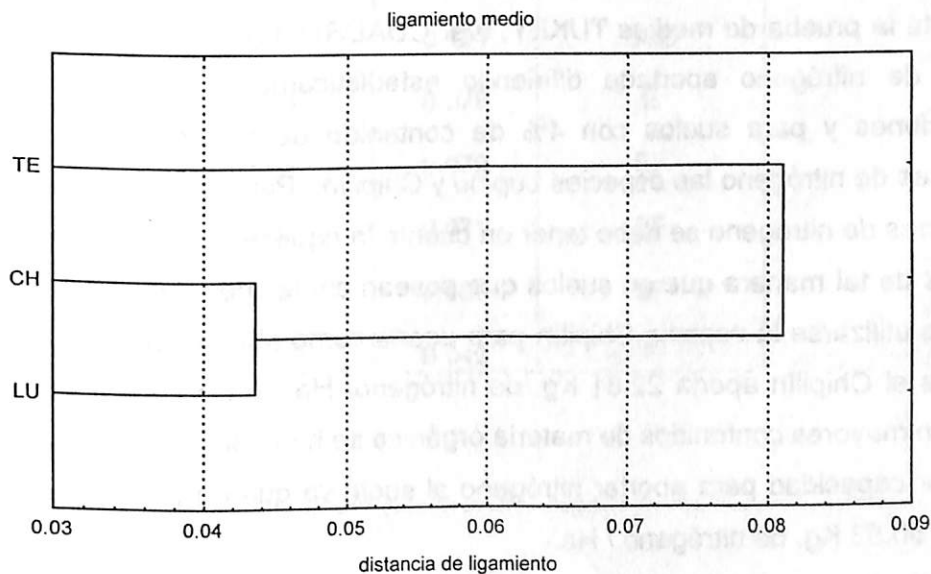
B= parcela pequeña

Coefficiente de variación 27.98%

CUADRO 13. Prueba de medias de TUKEY, para la variable nitrógeno total foliar, por leguminosas. (gr./planta)

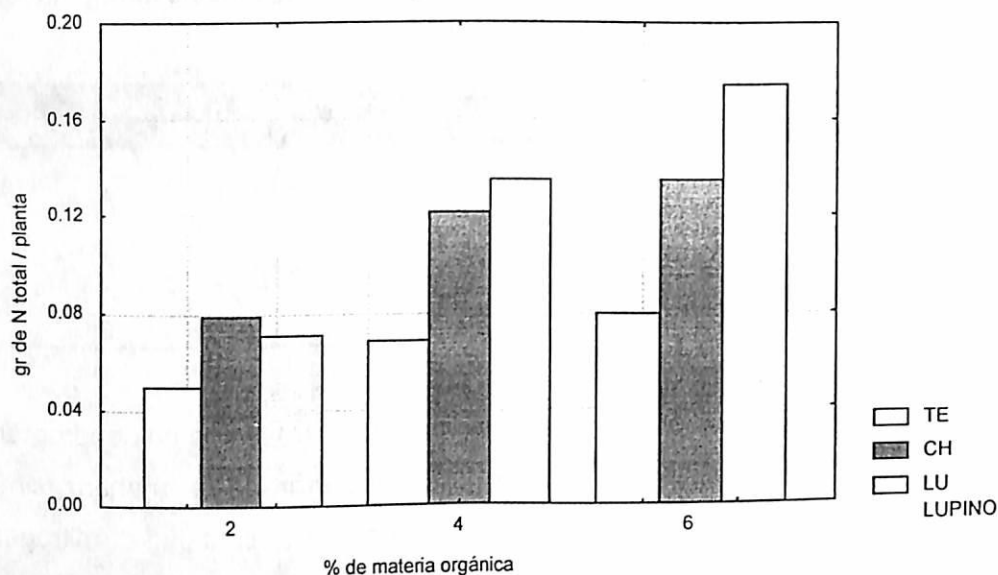
LEGUMINOSA	Contenido de N	Grupo TUKEY
Lupino	0.098	A
Chipilín	0.088	A
Tefrosia	0.054	B

Al hacer un análisis de agrupamiento a través de un dendrograma (ver GRAFICA 2), las especies de Chipilín y Lupino se comportaron de manera similar para esta variable (concentración de nitrógeno por planta) ya que la cantidad de nitrógeno foliar total por planta, estadísticamente es similar para ambas, nótese en la GRAFICA 2 que la especie Tefrosia se comporto de manera diferente para esta variable con un contenido de nitrógeno foliar de 0.05 gr. de nitrógeno total por planta.



GRAFICA 2. Dendrograma del comportamiento del Nitrógeno total aportado por la biomasa foliar de Tefrosia (TE), Chipilín (CH) y Lupino (LU).

La interpretación de la GRAFICA 3, nos indica que Lupino al 6 y 4% de materia orgánica tiene un buen aporte de nitrógeno total por planta (0.175 y 0.135 gramos de nitrógeno total / planta respectivamente), el Chipilín en 2% de materia orgánica reportó un mayor aporte que las otras dos leguminosas (0.08 gramos de nitrógeno total / planta) y Tefrosia en el testigo (arena) fue superior a las otras dos (0.02 gr de nitrógeno total por planta) factor que nos revela su gran capacidad de realizar fijación de nitrógeno con la ayuda de Rizobium.



**GRAFICA 3. interpretación del nitrógeno total foliar aportado por Tefrosia (TE), Chipilín (CH) y Lupino (LU) en 2, 4 y 6% de materia orgánica.**

De lo anterior se puede inferir que para suelos con contenidos de materia orgánica del 6% reporta la prueba de medias TUKEY, (ver CUADRO 15), la especie Lupino tiene la mayor cantidad de nitrógeno aportado difiriendo estadísticamente de los otros tratamientos y combinaciones y para suelos con 4% de contenido de materia orgánica resultan buenos aportadores de nitrógeno las especies Lupino y Chipilín. Para efectos de obtener resultados en aportaciones de nitrógeno se debe tener en cuenta la riqueza de materia orgánica contenida en los suelos de tal manera que en suelos que posean contenidos de materia orgánica iguales al 2% puede utilizarse la especie Chipilín para usarla como abono verde Ya que según nuestros resultados el Chipilín aporta 22.81 Kg. de nitrógeno/ Ha. Pero en el caso de que se tengan suelos con mayores contenidos de materia orgánica se ha podido identificar a la especie Lupino con mayor capacidad para aportar nitrógeno al suelo ya que en este estudio se determinó un aporte de 50.53 Kg. de nitrógeno / Ha.

Al analizar la prueba de medias de TUKEY para esta variable por materia orgánica (ver CUADRO 14) nos indica que no hay diferencia significativa entra la parcela grande de 6 y 4% de materia orgánica. Pues aportan cantidades similares de nitrógeno (0.13 y 0.11gramos de nitrógeno / planta respectivamente ). La parcela al 2% de materia orgánica es estadísticamente diferente ( 0.07gramos de nitrógeno / planta )

CUADRO 14. Prueba de medias de TUKEY, para la variable N total foliar, por contenido de M.O. (gr./planta)

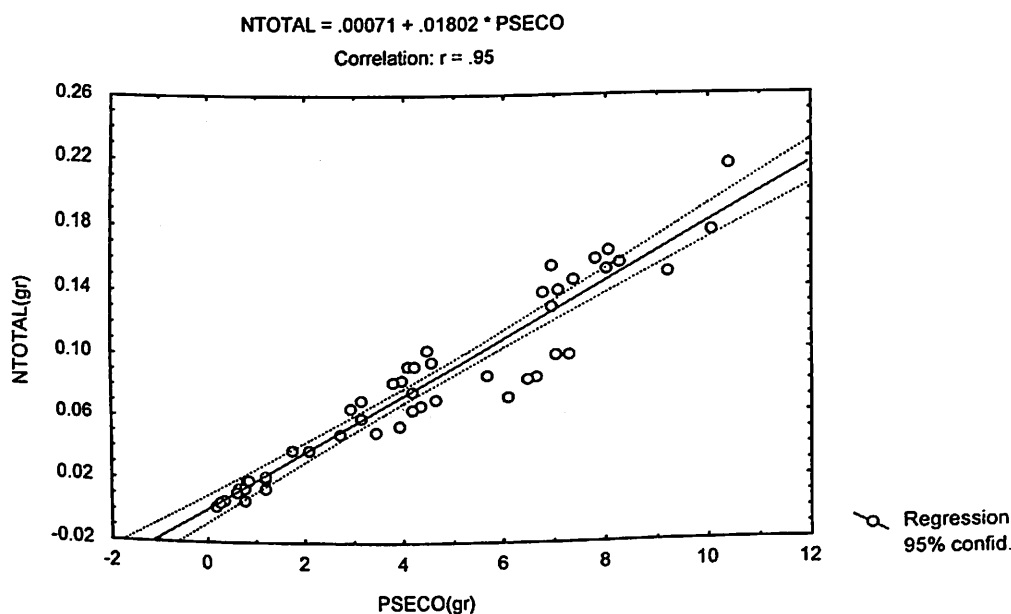
Contenido MO	M.O. (gr)	Grupo TUKEY
6%	0.13	A
4%	0.11	A
2%	0.07	B

CUADRO 15. Prueba de medias de TUKEY, para la variable N total foliar, para la interacción contenido de M.O. por Leguminosa (gr./planta)

Interacción M.O.* LEG	Yi..	Grupo TUKEY
06LU	0.176	A
06CH	0.135	B
04LU	0.135	BC
04CH	0.121	BCD
02CH	0.079	E
06TE	0.079	EF
02LU	0.071	EF
04TE	0.069	EF
02TE	0.049	F

### 7.3 Regresión entre la variable concentración de nitrógeno foliar / planta versus peso seco / planta.

En este análisis se pudo observar que las dos variables están directamente correlacionadas (Ver GRAFICA 4) con un valor de  $r = 0.95$  lo que implica que a mayor cantidad de peso seco total por planta, será mayor el contenido de nitrógeno total foliar por planta.



**GRAFICA 4.** Regresión lineal entre el nitrógeno total foliar aportado por planta y el peso seco foliar por planta de todos los tratamientos.

#### 7.3.1 Importancia de la Correlación entre la variable nitrógeno total/ planta versus peso seco / planta.

De la GRAFICA 4 se puede señalar que es gran importancia en la producción agrícola, ya que presentó un coeficiente de correlación de 0.95 lo que permite relacionar el peso seco con la concentración de nitrógeno foliar por planta. Y constituye una buena herramienta de campo, para estimar la cantidad de nitrógeno aportado midiendo el peso seco únicamente.

Los resultados revelan la influencia que ejerce la materia orgánica sobre la cantidad de nitrógeno aportado por las especies leguminosas Lupino y Chipilín a los 78 días después de la siembra. Algo importante de mencionar es que al analizar los resultados de laboratorio del CUADRO 7, se puede observar un pH bastante estable que osciló entre valores de 6.8 a 7.2, en la medida que aumento el porcentaje de materia orgánica fue proporcional con el contenido de nitrógeno, en 2% con cada uno de los sustratos manejados.

El fósforo también se vio afectado por la cantidad de materia orgánica contenida por el suelo, aumentando en forma proporcional al porcentaje de materia orgánica.

El cobre disminuyo en la medida que aumento la materia orgánica, y el elemento que aumentó fuertemente es el Zinc, casi en 30 meq / 100 ml de suelo, conforme aumento un 2% la materia orgánica.

## 8. CONCLUSIONES

1. La respuesta en cuanto al aporte de nitrógeno al suelo de las tres especies a los 78 días después de sembradas, esta en función del contenido de materia orgánica, presente en el suelo, con este estudio se identificó que para suelos con contenido de materia orgánica igual al 2% la especie que mayor resultado reportó fue Tefrosia (*Tephrosia lanata*) debido a la prueba de medias demostró que esta especie es bastante estable en todos los contenidos de materia orgánica. Para suelos ricos en materia orgánica iguales al 6 %, se identifica la especie Lupino (*Lupinus elegans*), con un mejor potencial de aportación de nitrógeno con 0.175 gr. de nitrógeno / planta.
2. La especie Chipilín (*Crotalaria longirostrata*) no presentó diferencia estadística significativa en cuanto al aporte de nitrógeno con los valores del Lupino.
3. Para la variable peso seco del follaje la especie Lupino (*Lupinus elegans*) reportó el mayor valor 9.36 gramos de materia seca / planta en un periodo de 78 días.
4. Mediante el análisis de regresión lineal se determinó que las variables nitrógeno total foliar / planta y peso seco del follaje / planta están altamente correlacionados en proporción directa es decir que a mayor cantidad de peso seco mayor aporte de nitrógeno en el suelo.

## 9. RECOMENDACIONES

1. Para suelos pobres en materia orgánica la utilización de Tefrosia (*Tephrosia lanata*) es la mas recomendada como abono verde y para suelos ricos en materia orgánica la especie Lupino (*Lupinus elegans*) resulta más promisorio. Pudiendo usarse también Chipilín (*Crotalaria longirostrata*).

## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Alexander, M. 1980. Introducción a la microbiología del suelo. Trad. por Juan José Peña. 2. ed. México, AGT. p. 241-352.
2. Arauz C., L. 1998. Fitopatología, un enfoque agroecológico. San José, CR, Universidad de Costa Rica. p. 137-150.
3. Atlas, R.; Bartha, R. 2002. Ecología microbiana y microbiología ambiental. Trad. por Ricardo Guerrero. 4. ed. Madrid, España, Pearson Educación. 696 p.
4. Buckman, H.; Brady, N. 1970. Naturaleza y propiedades de los suelos. Trad. por R. Salord Barceló. Barcelona, España, Montaner y Simon. p. 146-168.
5. Chapman, H.; Pratt, P. 1986. Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas. Trad. Agustín Contín. México, Trillas. p. 45-103.
6. Flores, M. 2000. ¿Qué entendemos por cultivos de cobertura y abonos verdes? (e línea). Tegucigalpa, Honduras, Cidicco. 2 p. Consultado 17 dic 2002. Disponible <http://rds.org.hn/miembros/cidicco/>
7. Iañez, E. 1998. Concepto e historia de la microbiología (en línea). In Universidad de Granada. Curso de microbiología general. 29 p. Consultado 17 dic 2002. Disponible en [http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/01\\_Micro.html](http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/01_Micro.html).
8. Monegat, C. 1991. Plantas de cobertura del suelo; características y manejo en pequeñas propiedades. Trad. por Ana Brundo. Tegucigalpa, Honduras, Centro Internacional de Información Sobre Cultivos de Cobertura. p. 41-242.
9. Porta, J.; López-Acevedo, M.; Roquedo, C. 1999. Edafología para la agricultura y el medio ambiente. 2 ed. España, Mundiprensa, p. 788-795.
10. Primavesi, A. 1984. Manejo ecológico del suelo; la agricultura en regiones tropicales. Trad. por Silvia Lereendegui. 5 ed. Brasil, El Ateneo. p. 146-182.
11. Ramírez R., L. 2001. Efecto del elemento faltante en los suelos Cauque y Tecpan, sobre el desarrollo de la nodulación de rizobium (*Rhizobium leguminosarum*), en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 54 p.
12. Restrepo, J. 1996. Aportes de los abonos verdes usados en la agricultura orgánica como cobertura. Colombia, s.e. 11 p.
13. Sagastume Tume, N. 1997. Experiencias sobre cultivos de cobertura y abonos verdes. Tegucigalpa, Honduras, Centro Internacional de Información Sobre Cultivos de Cobertura. p. 57-61.
14. Salisbury, F.; Ross, C. 1994. Fisiología vegetal. Trad. Virgilio González Velásquez. México, Iberoamérica. p. 319-338.
15. Sarrantonio, M. 1995. Metodologías de evaluación, leguminosas mejoradoras del suelo. Trad. por Regina Belli. Managua, Nicaragua. Servicio de Información Mesoamericano sobre Agricultura Sostenible. p. 165-205.
16. Sosa Cordón, EN. 1991. Levantamiento detallado de suelos del Centro Experimental Docente de Agronomía, Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. p. 16-19.

17. Standley, P.; Steyermark, J. 1949. Flora of Guatemala. Chicago, US, Chicago Natural History Museum. Fieldiana Botany v. 24, pte. 5, p. 272-274, 287-290, 352-357.
18. Tisdale, S.; Nelson, W. 1968. Soil fertility and fertilizers. 2 ed. New York, US, MacMillan. p. 126-193.



Be. Rolando Barrios

**11. ANEXOS**

CUADRO 16A. Método de Kjeldhal, modificado para incluir a los nitratos.

Principios	Reactivos	Procedimiento	Observaciones
<p>El nitrógeno orgánico y de nitratos se convierte en sulfato de amonio y éste se destila en ácido bórico y se titula con ácido sulfúrico estándar, utilizando un indicador adecuado. El método que se describe es apropiado tanto para la investigación como para los análisis de rutina.</p>	<p><i>Ácido sulfúrico-ácido salicílico.</i> Un gramo de ácido salicílico a 30 ml de ácido sulfúrico concentrado.  <i>Tiosulfato de sodio</i>, polvo seco de, aproximadamente, malla 20.  <i>Mezcla de sulfatos.</i> Mézclense diez partes de sulfato de potasio, una parte de sulfato ferroso y media parte de sulfato de cobre; muélase la mezcla para que pase por un cedazo de malla 40.  <i>Hidróxido de sodio</i>, 450 g en un litro de agua.  <i>Cinc musgoso</i>, en pedazos grandes.  <i>Ácido bórico</i>, solución acuosa al 2 por ciento.  <i>Ácido sulfúrico</i> estándar, 0.1 N. Prepárese ácido clorhídrico de ebullición constante, de acuerdo con las indicaciones dadas por Hillebrand y colaboradores (1953). Normalícese el hidróxido de sodio libre de carbonatos, en función del ácido clorhídrico, utilizando el indicador de fenolftaleína. Prepárese ácido sulfúrico de aproximadamente 0.1 N y determínese la concentración exacta por titulación con el hidróxido de sodio normalizado, utilizando el indicador de fenolftaleína.  <i>Indicador verde de bromocresol-rojo de metilo.</i>          Prepárese verde de bromocresol al 0.1 por ciento, agregando 2 ml de hidróxido de sodio 0.1 N por 0.1 g de indicador; prepárese 0.1 por ciento de rojo de metilo en alcohol etílico al 95 por ciento, añádase 3 ml de hidróxido de sodio 0.1 N por 0.1g. Mézclense 75 ml de indicador verde de bromocresol con 25 ml de indicador rojo de metilo. Dilúyase 200 ml con alcohol etílico.</p>	<p>Transfírase la muestra pesada de material seco a un matraz de Kjeldahl de 800 ml ( 1 g de tejido de plantas es una cantidad suficiente). El material deberá pasar por un cedazo de malla 20. Agréguese 50 ml de la mezcla de ácido sulfúrico-ácido salicílico y revuélvase de tal modo que se ponga rápidamente en contacto íntimo la muestra seca con el reactivo. Déjese en reposo hasta el día siguiente. Añádanse 5 g de Tiosulfato de sodio y caliéntese suavemente durante cinco minutos, aproximadamente, teniendo cuidado de evitar la formación de espuma. Enfríese, agréguese 10 g de la mezcla de sulfato y digiérase en el aparato de Kjeldahl, a pleno calor. Con materiales de plantas, la digestión se prosigue durante una hora, después de que la solución se haya aclarado. Cuando la digestión esté completa, enfríese y agréguese 300 ml de agua destilada y 100ml de hidróxido de sodio concentrado. Agréguese un pedazo grande de cinc musgoso. Conéctese la cabeza de destilación, agítese y destíllense 150 ml en 50 ml de solución de ácido bórico al dos por ciento. Agréguese diez gotas del indicador verde de bromocresol-rojo de metilo y titúlese hasta la aparición de una coloración rosada pálida, con ácido sulfúrico estándar. Deberán prepararse testigos y efectuar la titulación hasta el mismo punto final. Las determinaciones del contenido de humedad se hacen en muestras de 2 g de plantas, secándolas en un horno a 105° C, exactamente durante cinco horas.</p>	<p>El indicador mezclado es verde en el lado alcalino y rojo en el ácido. El punto final es gris e incoloro. Las protecciones de asbesto son innecesarias para los matraces de digestión, a condición de que no se permita que la llama entre directamente en contacto con el matraz, por encima del nivel de la mezcla ácida. Las conexiones de caucho del aparato de destilación deben ajustarse de tal modo que haya expuesto tan poco caucho como sea posible. Esta puede ser una fuente de contaminación con amoniaco. Las diferencias pequeñas en la cantidad de ácido bórico y el volumen no tienen influencia sobre las cifras de la titulación; 50 ml de ácido bórico al dos por ciento se combinarán con, aproximadamente, 45 mg de nitrógeno de amoniaco. Sin embargo, hay un error creciente de sal en el punto final de la titulación, al aumentar las cantidades de sulfato de amonio; se trata de un error de menos, con cantidades inferiores a 0.5 por ciento con 15 mg de nitrógeno. Las determinaciones repetidas por este método en materiales de suelo del mismo recipiente, dan valores que van de 0.0502 a 0.0518 por ciento de nitrógeno total. El error probable del promedio de dos determinaciones será de <math>\pm 0.0002</math> por ciento de nitrógeno. En términos de error de porcentaje, representaría <math>\pm 0.39</math>. La diferencia entre el valor más elevado y el más bajo fue de 3.1 por ciento.</p>

FUENTE: CHAPMAN y PRATT (5) el nitrógeno varía comúnmente en plantas de 0.2 a 4.0 por ciento, dependiendo de las especies, la parte de la planta y su edad.

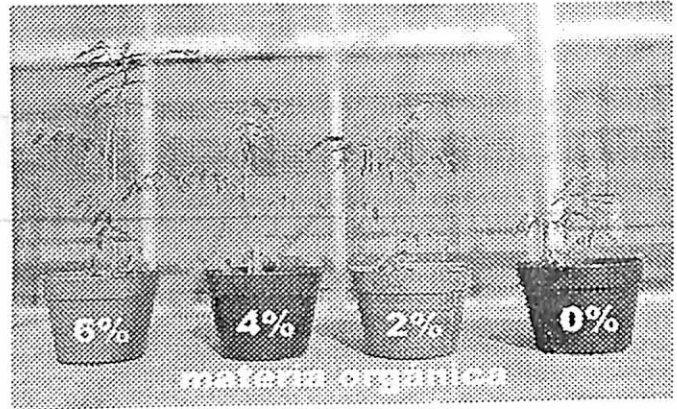


FIGURA 7A. Comparación del subtratamiento *Tephrosia lanata* en las cuatro diferentes parcelas grandes con 6, 4 y 2 % de materia orgánica.

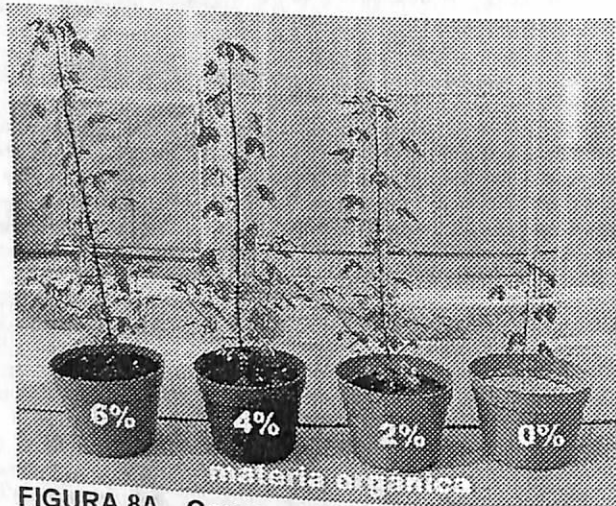


FIGURA 8A. Comparación del subtratamiento *Crotalaria longirostrata* en las cuatro diferentes parcelas grandes con 6, 4 y 2 % de materia orgánica.

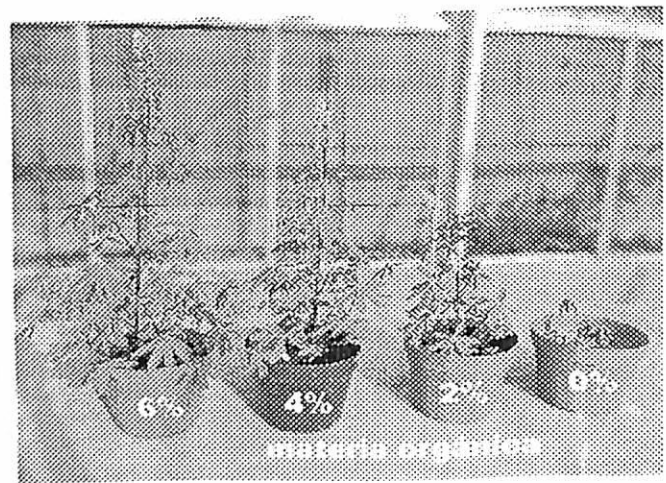


FIGURA 9A. Comparación del subtratamiento *Lupinus elegans* en las cuatro diferentes parcelas grandes con 6, 4 y 2 % de materia orgánica.

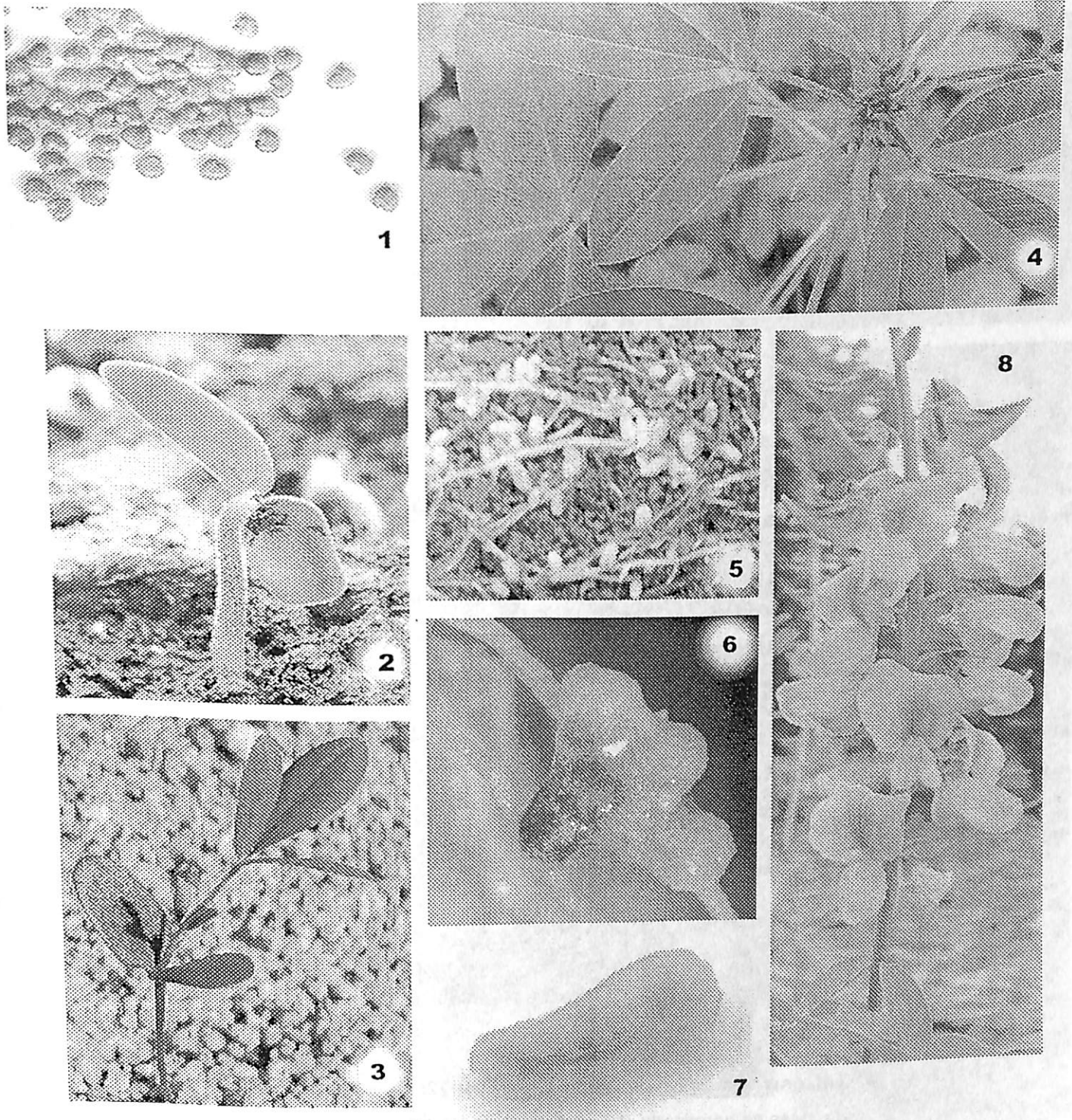


FIGURA 10A. Chipilín, *Crotalaria longirostrata*: [1] semillas, [2] plántula, [3] planta a los 20 días después de germinada, [4] planta a los 3 meses, [5] raíz con la nodulación, [6] nódulo maduro con forma de abanico, con presencia de leghemoglobina, [7] nódulo partido, se puede observar en rosado la leghemoglobina, [8] flor de Chipilín.

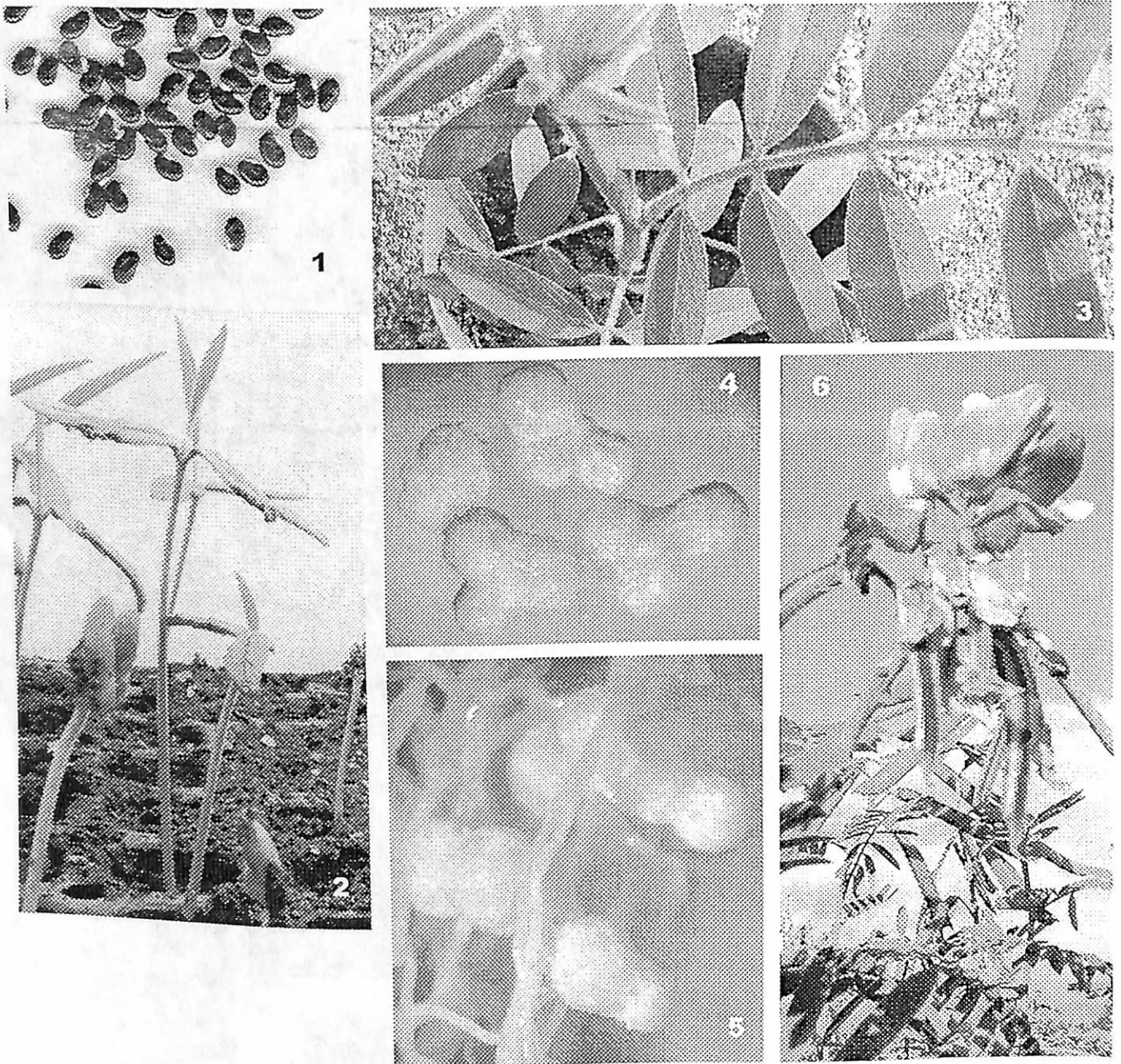
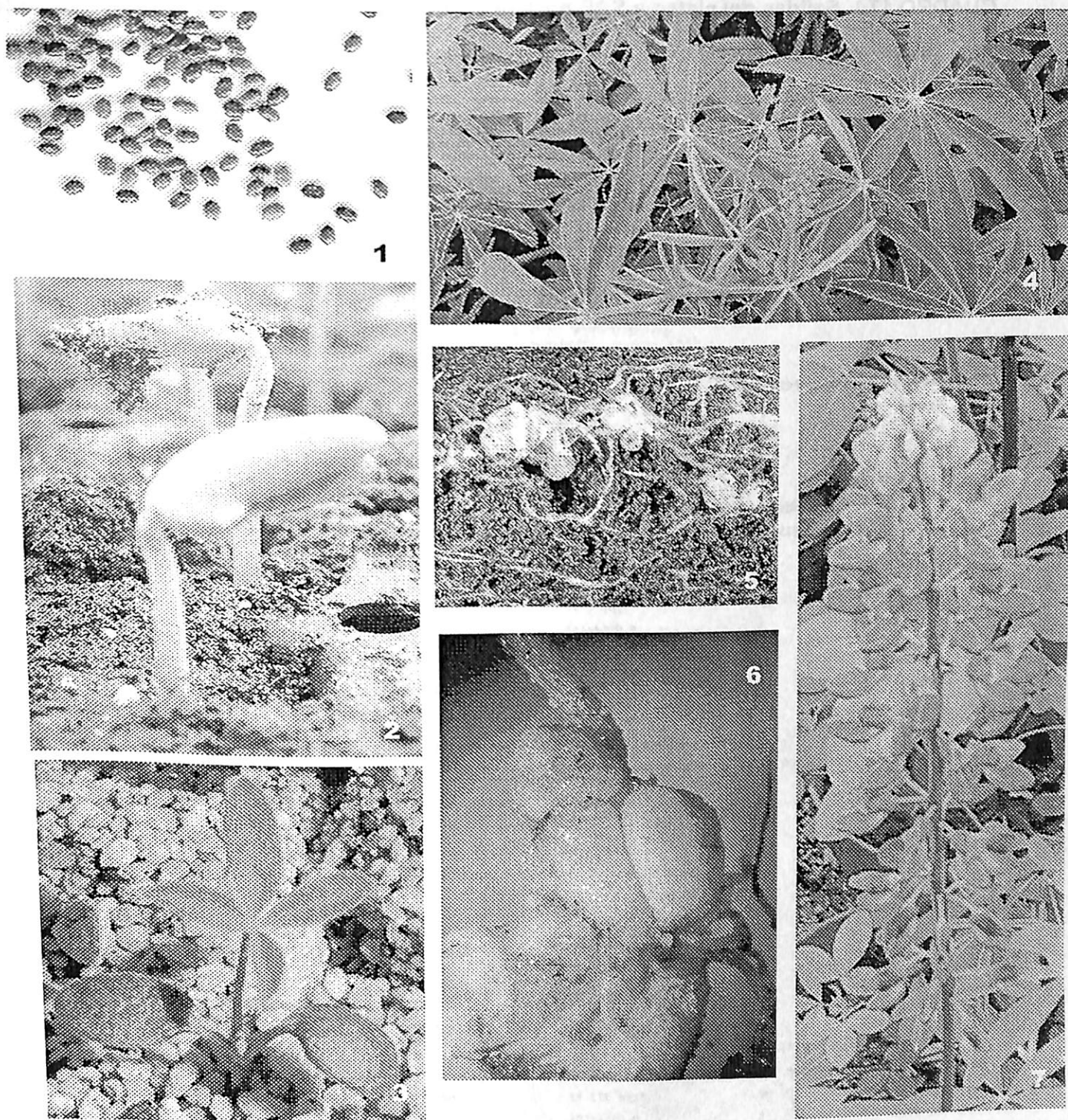


FIGURA 11A. Tefrosia, *Tephrosia lanata*: [1] semillas, [2] plántulas, [3] planta a los 3 meses después de germinada, [4] morfología de los nódulos [5] raíz con la nodulación, [6] flor de Tefrosia con presencia de vainas.



**FIGURA 11A.** Lupino *Lupinus elegans*: [1] semillas, [2] plántulas, [3] planta a los 20 días después de germinada, [4] planta a los 3 meses, [5] raíz con la nodulación, [6] nódulo en grupo, alrededor de la raíz principal, con presencia de lemglobina, [7] flor de lupino.

CUADRO 17A. Salidas del sistema SAS para la variable concentración de nitrógeno foliar / planta.

The SAS System  
CONCENTRACIÓN DE NITROGENO FOLIAR / PLANTA  
General Linear Models Procedure  
Class Level Information

1

Class	Levels	Values
REP	4	1 2 3 4
MO	4	CE CU DO SE
LEG	3	1 2 3

Number of observations in data set = 48

The SAS System  
NITROGENO TOTAL FOLIAR / PLANTA

2

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: PESO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	23	0.12823798	0.00557556	11.24	0.0001
Error	24	0.01190750	0.00049615		
Corrected Total	47	0.14014548			
	R-Square	C.V.	Root MSE		PESO Mean
	0.915035	27.98136	0.02227433		0.07960417

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MO	3	0.09544656	0.03181552	64.13	0.0001
LEG	2	0.01705617	0.00852808	17.19	0.0001
MO*LEG	6	0.01325500	0.00220917	4.45	0.0037
REP*MO	12	0.00248025	0.00020669	0.42	0.9419
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MO	3	0.09544656	0.03181552	64.13	0.0001
LEG	2	0.01705617	0.00852808	17.19	0.0001
MO*LEG	6	0.01325500	0.00220917	4.45	0.0037
REP*MO	12	0.00248025	0.00020669	0.42	0.9419

The SAS System  
CONCENTRACIÓN DE NITROGENO FOLIAR / PLANTA

3

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: PESO

Tests of Hypotheses using the Type III MS for REP\*MO as an error term

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MO	3	0.09544656	0.03181552	153.93	0.0001

The SAS System  
CONCENTRACION DE NITROGENO FOLIAR / PLANTA

4

General Linear Models Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: PESO

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 24 MSE= 0.000496  
Critical Value of Studentized Range= 3.532  
Minimum Significant Difference= 0.0197

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	LEG
A	0.097563	16	3
A	0.087688	16	2
B	0.053563	16	1

The SAS System  
CONCENTRACION DE NITROGENO FOLIAR / PLANTA

5

General Linear Models Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: PESO

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 24 MSE= 0.000496  
Critical Value of Studentized Range= 3.901  
Minimum Significant Difference= 0.0251

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	MO
A	0.130000	12	SE
A	0.108500	12	CU
B	0.066750	12	DO
C	0.013167	12	CE

The SAS System  
 CONCENTRACIÓN DE NITROGENO FOLIAR / PLANTA  
 General Linear Models Procedure  
 Least Squares Means

MO	LEG	PESO LSMEAN	Pr >  T	HO: LSMEAN(i)=LSMEAN(j)											
			i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
par2	1	0.04950000	1	.	0.0667	0.1849	0.2163	0.0001	0.0001	0.0711	0.0001	0.0001	0.0439	0.0384	0.0156
par2	2	0.07975000	2	0.0667	.	0.5837	0.5214	0.0156	0.0017	0.9749	0.0017	0.0001	0.0005	0.0004	0.0001
par2	3	0.07100000	3	0.1849	0.5837	.	0.9249	0.0042	0.0004	0.6052	0.0004	0.0001	0.0019	0.0016	0.0006
par4	1	0.06950000	4	0.2163	0.5214	0.9249	.	0.0034	0.0003	0.5417	0.0003	0.0001	0.0024	0.0020	0.0007
par4	2	0.12075000	5	0.0001	0.0156	0.0042	0.0034	.	0.3664	0.0145	0.3664	0.0020	0.0001	0.0001	0.0001
par4	3	0.13525000	6	0.0001	0.0017	0.0004	0.0003	0.3664	.	0.0016	1.0000	0.0174	0.0001	0.0001	0.0001
par6	1	0.07925000	7	0.0711	0.9749	0.6052	0.5417	0.0145	0.0016	.	0.0016	0.0001	0.0005	0.0004	0.0002
par6	2	0.13525000	8	0.0001	0.0017	0.0004	0.0003	0.3664	1.0000	0.0016	.	0.0174	0.0001	0.0001	0.0001
par6	3	0.17550000	9	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0020	0.0174	0.0001	0.0174	.	0.0001	0.0001	0.0001
parA	1	0.01600000	10	0.0439	0.0005	0.0019	0.0024	0.0001	0.0001	0.0005	0.0001	0.0001	.	0.9499	0.6383
parA	2	0.01500000	11	0.0384	0.0004	0.0016	0.0020	0.0001	0.0001	0.0004	0.0001	0.0001	0.0001	.	0.6835
parA	3	0.00850000	12	0.0156	0.0001	0.0006	0.0007	0.0001	0.0001	0.0002	0.0001	0.0001	0.6383	0.6835	.

NOTE: To ensure overall protection level, only probabilities associated with pre-planned comparisons should be used.

CUADRO 18A. Salidas del sistema SAS para la variable Peso seco foliar / planta.

The SAS System  
PESO SECO FOLIAR / PLANTA

General Linear Models Procedure  
Class Level Information

Class	Levels	Values
REP	4	1 2 3 4
MO	4	CE CU DO SE
LEG	3	1 2 3

Number of observations in data set = 48

1

The SAS System  
PESO SECO FOLIAR / PLANTA

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: PESO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	23	15313.76191458	665.81573542	30.32	0.0001
Error	24	526.95438333	21.95643264		
Corrected Total	47	15840.71629792			

	R-Square	C.V.	Root MSE	PESO Mean
	0.966734	19.84357	4.68576916	23.61354167

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MO	3	9594.24112292	3198.08037431	145.66	0.0001
LEG	2	3091.09131667	1545.54565833	70.39	0.0001
MO*LEG	6	2282.66723333	380.44453889	17.33	0.0001
REP*MO	12	345.76224167	28.81352014	1.31	0.2746

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MO	3	9594.24112292	3198.08037431	145.66	0.0001
LEG	2	3091.09131667	1545.54565833	70.39	0.0001
MO*LEG	6	2282.66723333	380.44453889	17.33	0.0001
REP*MO	12	345.76224167	28.81352014	1.31	0.2746

2

The SAS System  
PESO SECO FOLIAR / PLANTA

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: PESO

Tests of Hypotheses using the Type III MS for REP\*MO as an error term

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
MO	3	9594.24112292	3198.08037431	110.99	0.0001

3

The SAS System  
PESO SECO FOLIAR / PLANTA

4

General Linear Models Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: PESO

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 24 MSE= 21.95643  
Critical Value of Studentized Range= 3.532  
Minimum Significant Difference= 4.1372

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	LEG
A	34.532	16	3
B	20.836	16	2
C	15.473	16	1

The SAS System  
PESO SECO FOLIAR / PLANTA

5

General Linear Models Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: PESO

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 24 MSE= 21.95643  
Critical Value of Studentized Range= 3.901  
Minimum Significant Difference= 5.2771

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	MO
A	40.226	12	SE
B	33.079	12	CU
C	17.428	12	DO
D	3.722	12	CE

The SAS System  
 PESO SECO FOLIAR / PLANTA  
 General Linear Models Procedure  
 Least Squares Means

6

MO	LEG	PESO LSMEAN	Pr > i/j	T  HO: LSMEAN(i)=LSMEAN(j)											
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
par2	1	2.84750000		0.0985	0.5017	0.0033	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0037	0.0007	0.0002
par2	2	3.79250000	0.0985		0.3101	0.1362	0.0018	0.0001	0.0005	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
par2	3	3.22250000	0.5017	0.3101		0.0165	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0007	0.0001	0.0001
par4	1	4.64000000	0.0033	0.1362	0.0165		0.0611	0.0001	0.0212	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
par4	2	5.72000000	0.0001	0.0018	0.0001	0.0611		0.0026	0.6214	0.0117	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
par4	3	7.57000000	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0026		0.0085	0.0085	0.5303	0.0034	0.0001	0.0001	0.0001
par6	1	5.99500000	0.0001	0.0005	0.0001	0.0001	0.0026	0.0085		0.0355	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
par6	2	7.22000000	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0117	0.5303	0.0355		0.0007	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
par6	3	9.35750000	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0034	0.0001	0.0007		0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
para	1	1.07750000	0.0037	0.0001	0.0007	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		0.4960	0.2347
para	2	0.69750000	0.0007	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.4960		0.6026
para	3	0.40750000	0.0002	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.2347	0.6026	

NOTE: To ensure overall protection level, only probabilities associated with pre-planned comparisons should be used.



FACULTAD DE AGRONOMIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES  
AGRONOMICAS

LA TESIS TITULADA:

" APORTE DE NITROGENO AL SUELO  
POR TRES LEGUMINOSAS NATIVAS  
EN INVERNADERO".

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE:

VICTOR HERMOGENES CASTILLO DIAZ

CARNET:

8430431

HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES:

Ing. Agr. Carlos Fernández Pérez  
Ing. Agr. Juan Albertó Herrera

Los Asesores y las Autoridades de la Facultad de Agronomía, hacen constar que ha cumplido con las Normas Universitarias y Reglamentos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Ing. Agr. Francisco Javier Vásquez Vásquez  
A S E S O R

Ing. Agr. Ovidio Anibal Sacbajá Galindo  
A S E S O R

Dr. Ariel Abderraman Ortiz López  
DIRECTOR DEL IIA



I M P R I M A S

Ing. Agr. M. Sc. Edgar Oswaldo Franco  
D E C A N O



L/nm  
c. Archivo  
IIA  
Control Académico