

Eficiencia de algunas leguminosas en la utilización de fósforo proveniente de rocas fosfóricas

Efficiency of some leguminous crops to use P from phosphate rock

M.J. Pérez

Recursos Agroecológicos, CENIAP-INIA-Aragua, Apdo. Postal 4669, Maracay 2101-A, estado Aragua, Venezuela.

Resumen

Las leguminosas noduladas reciben la mayor parte del N a través de la fijación biológica del N_2 , por lo que pudieran acumular un exceso de cationes y consecuentemente acidificar la rizosfera y promover la disolución de rocas fosfóricas (RFs) en el suelo. El objetivo de este trabajo fue estudiar y comparar el patrón de acumulación de cationes en seis tipos de leguminosas: Fríjol (*Vigna unguiculata* cv. *Tuy*), Quinchoncho (*Cajanus cajan* cv. *Arorita*), Soya (*Glycine max* cv. *Cristalina*), Estilosantes (*Stylosanthes guianensis*), Crotalaria (*Crotalaria juncea*) y Añil (*Indigofera lepedeciodae*) y su relación con la eficiencia de éstas para utilizar P de la roca fosfórica Riecito (RFR). Se desarrolló un experimento en invernadero utilizando un Ultisol ácido (pH 5,0), deficiente en P ($5,0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) y Ca ($0,26 \text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$). Se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas, donde las parcelas principales fueron ocupadas por el tipo de leguminosa y las parcelas secundarias por los tratamientos de P. Estos consistieron en la aplicación de cuatro dosis de P soluble en citrato de amonio neutro (0, 25, 50 y $75 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) de la roca fosfórica Riecito (RFR). En la planta se determinó materia seca aérea, peso fresco de nódulos y la acumulación de N total, cationes (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ y Na^+) y aniones (H_2PO_4^- y SO_4^{2-}) en biomasa aérea. En suelo, se determinó pH, Ca intercambiable y P disponible. En orden decreciente, la eficiencia de estas leguminosas para utilizar P de la RFR, fue el siguiente: Añil \geq Fríjol $>$ Estilosantes $>$ Soya \geq Crotalaria \geq Quinchoncho. La mayor eficiencia del Añil, Fríjol y Estilosantes para utilizar P de la RFR, estuvo asociada con una mayor acumulación de Ca, N total y un exceso de cationes en estas leguminosas, en relación a la Soya, Crotalaria y Quinchoncho. Los

valores relativos de Ca y exceso de cationes acumulados en planta, pudieran servir como indicadores para seleccionar cultivos por su eficiencia para utilizar P de rocas fosfóricas de mediana a alta reactividad, tal como la RFR.

Palabras clave: leguminosas, uso eficiente del P, disponibilidad de P, rocas fosfóricas, fijación biológica de N₂.

Abstract

Nodule leguminous plants receive most of their N from N₂ fixation. Therefore, excess of cations could occur with a consequent rizosphere acidification and the phosphate rocks dissolution (PRs). The objective of this study was to compare the accumulation cations pattern among six leguminous crops types: cowpea (*Vigna unguiculata* cv. *Tuy*), pigeon pea (*Cajanus cajan* cv. *Arorita*), Soybean (*Glycine max* cv. *Cristalina*), Stylosanthes (*Stylosanthes guianensis*), Crotalaria (*Crotalaria juncea*), and Indigo (*Indigosfera lespedeceode*), and its relationship with the legumes efficiency to use P from Riecito phosphate rock (RPR). A green house experiment was carried out by using an acid Ultisol (pH 5.0), deficient in P (5.0 mg·kg⁻¹) and Ca (0.26 cmol·kg⁻¹). An experimental design of divided plot was used, in where the legume type represented the main plot and P treatments the subplot. Treatments consisted of applying 0, 25, 50 and 75 mg·kg⁻¹ of soluble P in neutral ammonium citrate, from Riecito phosphate rock (RFR). In plant, aerial dry material, nodule fresh weight, total N, cations sum (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺ and Na⁺) and anions (H₂PO₄⁻ and SO₄²⁻) in aerial biomass, were determined. In soil, pH, exchangeable Ca and P availability, were determined. Crop's efficiency to use P from RPR had the following decreasing order: Indigo ≥ Cow pea > Stylosanthes > Soybean ≥ Crotalaria ≥ Pigeon pea. Higher efficiency of Indigo, Cowpea and Stylosanthes to use P from RFR was associated with a high accumulation of Ca, total N and a cations excess in these legumes compared to Soybean, Crotalaria and Pigeon pea. Relative values of Ca and cations excess accumulated in plant, could serve as indicators to select crops by their efficiency to use P from phosphate rocks of medium-high reactivity such as RPR.

Key words: legumes, P use efficiency, available P, phosphate rocks, N₂ fixation.

Introducción

El nitrógeno es el elemento requerido en mayor cantidad en la nutrición de las plantas (1). La forma iónica como el nitrógeno es absorbido por la planta, influye sobre el patrón de absorción de cationes-aniones por la planta. Cuando el nitrógeno es absorbido en forma de NH₄⁺, el total de

Introduction

Nitrogenous is the element required in a high quantity for plant nutrition (1). Ionic form like nitrogen is absorbed in plants by influencing the cations absorption pattern-anions by plants. When nitrogenous is absorbed as NH₄⁺, total of cations absorbed by plant (K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺ and NH₄⁺

de cationes absorbidos por la planta (suma de K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ y NH_4^+) excede al total de aniones absorbidos (suma de $H_2PO_4^-$, SO_4^{2-} , Cl^- y NO_3^-). La planta para mantener su balance interno de cargas, libera protones H^+ hacia la rizosfera, con la consecuente acidificación de la rizosfera. Mientras que cuando el nitrógeno es absorbido en forma de NO_3^- , el total de aniones puede exceder al total de cationes absorbidos, y la planta presumiblemente puede mantener su balance interno de cargas, mediante la extrusión de OH^- hacia la rizosfera y eventualmente causar un aumento en el pH de la rizosfera (2). Cuando las plantas dependen de la fijación biológica del N_2 , ninguna de las formas iónicas del N (NH_4^+ ó NO_3^-) juega un papel importante en el patrón de absorción de iones en la planta y generalmente el total de cationes absorbidos (suma de K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , y Na^+) excede al total de aniones absorbidos ($H_2PO_4^-$, SO_4^{2-} , Cl^-) con la consecuente acidificación de la rizosfera (3). En este sentido, Jarvis y Robson (4) compararon el efecto de la fuente de N mineral en Trébol Subterráneo, sobre la acidificación de la rizosfera y concluyeron que la acidificación del suelo fue de 0,9 unidades de pH con las plantas que recibieron $N-NH_4^+$, 0,5 unidades de pH con aquellas que dependieron del N_2 fijado simbióticamente, y que hubo muy pocos cambios en pH con las plantas que recibieron $N-NO_3^-$.

Por otro lado, es conocido que la tasa de disolución de las rocas fosfóricas en suelo, depende de la concentración de protones (H^+) y los productos de reacción, Ca^{2+} y $H_2PO_4^-$ en solución, alrededor de los gránulos de

sum) exceeds $H_2PO_4^-$, SO_4^{2-} , Cl^- y NO_3^-). In order to maintain its charges internal balance release protons H^+ to the rhizosphere with its consequent acidification. Whereas when nitrogenous is absorbed as NO_3^- , total of anions can exceed total of absorbed cations and plant is able to maintain its charges internal balance through OH^- toward rhizosphere PH (2). When plants depends on the biologic fixation of N_2 none of ionic forms of N (NH_4^+ or NO_3^-) play an important role on ions absorption pattern on plant and generally, total of absorbed cations (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , and Na^+) exceed total of absorbed anions ($H_2PO_4^-$, SO_4^{2-} , Cl^-) with the consequent rhizosphere acidification (3). In this sense, Jarvis and Robson (4) compared the effect of N mineral source in sub terrain TREBOL on rhizosphere acidification and concluded that soil acidification was of PH 0.9 units with plants receiving $N-NH_4^+$; 0.5 PH units with those depending on N_2 fixed in a symbiotic way and there was so little changes on plant receiving $N-NO_3^-$.

On the other hand, it is know that phosphate rocks dissolution rate in soil depends on proton concentration (H^+) and reaction products Ca^{2+} and $H_2PO_4^-$, in solution, around RF granules. It means, PR dissolution increase when soil acidity increases, and P and Ca concentrations in soil decreases (5). Robinson *et al.* (6) reported that there is an influence of size on Ca drain on RFs dissolution. A high Ca extraction by crop could maintain a low Ca level in soil solution which permits RFs dissolution continues. Perez and Smith (7) compared effect of two forage species (*Brachiaria decumbens*) and

la RF. Es decir, la tasa de disolución de las RFs aumenta a medida que aumenta la acidez del suelo y disminuyen las concentraciones de P y Ca en suelo (5). En tal sentido, Robinson *et al.* (6) reportaron que existe una fuerte influencia del tamaño del sumidero de Ca sobre la disolución de las RFs. Una alta extracción de Ca por el cultivo podría mantener un bajo nivel de Ca en la solución del suelo, lo cual permitiría que la disolución de la RF continúe. Pérez y Smyth (7) compararon el efecto de dos especies forrajeras (*Brachiaria decumbens* y *Stylosanthes guianensis*) sobre la acidificación de la rizosfera y la disolución de tres rocas fosfóricas de diferente solubilidad (Monte Fresco, Riecito y Carolina del Norte) y encontraron que la leguminosa (*Stylosanthes*) fue más eficiente que la gramínea (*Brachiaria*) en disolver y utilizar P de RFs de mediana a alta solubilidad. La mayor eficiencia de la leguminosa para disolver RFs estuvo asociada a su dependencia en la fijación biológica de N_2 (N reducido) y a la mayor absorción de Ca, en relación a la gramínea, lo cual contribuyó con un exceso de cationes acumulados en la planta y consecuentemente la disminución del pH a nivel de rizosfera y disolución de las RFs. Con base a esta información, surgió la necesidad de conocer si las leguminosas en general, presentan similar potencial para utilizar rocas fosfóricas en condiciones de suelos deficientes en P y Ca. Por lo cual, el objetivo de este trabajo fue comparar el patrón de nutrición (exceso de cationes acumulados) en varios tipos de leguminosas y su

Stylosanthes guianensis) on rhizosphere acidification and dissolution of three phosphate rocks of different solubility (Monte Fresco, Riecito and Carolina del Norte, and they found that leguminous crops (*Stylosanthes*) was more efficient than gramineae (*Brachiaria*) in dissolving and using P of RFs from medium to high solubility. Higher efficiency of leguminous for dissolving PR was associated to its dependence on biological fixation of N_2 (N reduced) and to the higher Ca absorption in relation to gramineae which contributed with accumulated cations exceeds in plants and consequently Ph diminishing at a rhizosphere level and PRs dissolution. Based on this, it is necessary to know if a leguminous crop in general shows similar capacity for using phosphate rocks in conditions of P and C deficient soils. Thus, the purpose of this research was to compare the nutrition pattern (excess of accumulated cations) in some leguminous types and its relationship with efficiency of them for using P and Riecito phosphate rock (RFR).

Materials and methods

Experimental design and management:

A glasshouse essay was established by using an acid soil (Ph 5.0) deficient in P ($5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ P Olsen) and Ca ($0.26 \text{ c mol}\cdot\text{kg}^{-1}$), a low organic matter content (0.83%) and sandy soil texture (87% sand), classified like Typic Paleustult, located in Espino, Guarico state, Llanos Centrales de Venezuela. A split plot design with three replications was used. Principal

relación con la eficiencia de éstas para utilizar P de la roca fosfórica Riecito.

Materiales y métodos

Diseño experimental y manejo del experimento:

Se estableció un ensayo de invernadero utilizando un suelo ácido (pH 5,0), deficiente en P ($5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ P-Olsen) y en Ca ($0,26 \text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$), bajo contenido de materia orgánica (0,83%) y textura areno francosa (87% arena), clasificado como Typic Paleustult, ubicado en Espino, Estado Guárico, en los Llanos Centrales de Venezuela. Se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas con tres repeticiones, donde las parcelas principales fueron representadas por el tipo de leguminosa [tres leguminosas de grano: Fríjol (*Vigna unguiculata cv. Tuy*), Quinchoncho (*Cajanus cajan cv. Arorita*) y Soya (*Glycine max cv. Cristalina*) y tres leguminosas forrajeras: Estilosantes (*Stylosanthes guianensis*), Crotalaria (*Crotalaria juncea*) y Añil (*Indigosfera lespedeceode*)] y las parcelas secundarias fueron ocupadas por los tratamientos de P. Estos consistieron en cuatro dosis de P soluble en citrato de amonio neutro (0, 25, 50 y $75 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) proveniente de la roca fosfórica Riecito (RFR). La RFR utilizada presentó un contenido de 12,7% de P total, 3,7% de P soluble en citrato de amonio neutro y 24,8% de Ca total. Se utilizaron macetas de plástico con capacidad para 4 kg de suelo y las plantas fueron inoculadas con cepas de rizobium específicas para cada tipo de leguminosa. Los inóculos específicos para

plots were represented by leguminous: [3 grain leguminous: Cowpea (*Vigna unguiculata cv. Tuy*), Pigeon pea (*Cajanus cajan cv. Arorita*) and Soybean (*Glycine Max cv. Cristalina*), and 3 forage leguminous; *Stylosanthes* (*Stylosanthes guianensis*), *Crotalaria* (*Crotalaria juncea*) and Indigo (*Indigosfera lespedeceode*)] and secondary plots were occupied by P treatments. These consisted on 4 P soluble in neutral ammonium citrate doses (0, 25, 50 and $75 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) from Riecito phosphate rock (RFR). This showed a content of 12.7% of P total; 3.7% of P soluble in neutral ammonium citrate, and 24.8% of Ca total. Plastic plots with capacity for 4 kg of soil were used and plants were inoculated with rhizobium strains specified for each leguminous type. Specific inoculums for *Stylosanthes*, *Crotalaria*, Cowpea and Pigeon pea were obtained from Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) in Colombia. Indigo inoculum was isolated from natural inoculations, in acids savannas de Guarico state in where soil for essay was collected, and Soybean inoculum's was obtained in Aventis CA enterprise. Inoculums were applied as suspension ($10 \text{ mL}\cdot\text{pot}^{-1}$) at sowing time, except Soybean which was applied as peat around seed at sowing time. Soil moisture was maintained at 80% of field capacity approximately. Nutritive solutions were applied every other day, during all treatment period. Total macro nutrients quantities added by pot, expressed in $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ of soil were: 250 of K, 52 of Mg and 170 of S like MgSO_4

Estilosantes, Crotalaria, Fríjol y Quinchoncho provinieron del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) en Colombia. El inóculo para Añil se aisló de plantas noduladas naturalmente, en las sabanas ácidas del Estado Guárico, de donde se recolectó el suelo para el ensayo, y el inóculo para Soya se obtuvo de la empresa Aventis C.A. Los inóculos fueron aplicados como suspensión (10mL.maceta⁻¹) al momento de la siembra, excepto el de Soya, el cual se aplicó como turba alrededor de la semilla al momento de la siembra. La humedad del suelo se mantuvo aproximadamente al 80% de capacidad de campo y se aplicaron soluciones nutritivas interdiarias, durante todo el periodo del experimento. Las cantidades totales de macronutrientes añadidos por maceta, expresadas en mg.kg⁻¹ de suelo fueron: 250 de K, 52 de Mg y 170 de S como MgSO₄ y K₂SO₄ y las cantidades de micronutrientes aplicados por maceta, expresadas en ug.kg⁻¹ de suelo fueron: 55,0 de Mn como MnSO₄.H₂O, 4,0 de Cu como CuSO₄.5H₂O, 7,0 de B como H₃BO₃, 2,0 de Mo como NaMoO₄.2H₂O, 0,4 de Co como CoCl₂.6H₂O, 375,0 de Fe como FeCl₃.6H₂O, 216 de Na como EDTA y NaCl. No se aplicó N mineral, de manera que la mayor parte del N acumulado en la planta provino del proceso de fijación biológica. Tampoco se aplicó Ca, de manera de promover la disolución de la RFR. La cosecha de la Soya, Fríjol, Quinchoncho y Crotalaria (cultivos con mayor tasa de crecimiento) se realizó a las seis semanas después de la siembra, mientras que el Stylosanthes y Añil (cultivos con menor tasa de crecimiento) se

and K₂SO₄ and micro nutrients applied by pot, expressed in mg.kg⁻¹ of soil were: 55.0 of Mn like MnSO₄.H₂O, 4.0 of Cu like CuSO₄.5H₂O, 7.0 of B like H₃BO₃, 2.0 of Mo like NaMoO₄.2H₂O, 0.4 of Co like CoCl₂.6H₂O, 375.0 of Fe like FeCl₃.6H₂O, 216 of Na like EDTA and NaCl. N mineral was not applied, so that, the higher quantity of N accumulated in plant came from biological fixation process. Ca was not applied, so the RFR dissolution was promoted. Soybean, Cowpea, Pigeon pea and Crotalaria (crops with higher growing rate) harvesting, was made at 6 weeks after sowing, whereas Stylosanthes and Indigo (crops with lower growing rate) were harvested at 8 weeks after sowing.

Harvest and analysis of soil and plant:

Aerial part of plant was harvested at 1 cm over soil surface, then was dried in a forced air oven at 70°C during 48 hours and aerial dry weight per pot was determined. In plant, N and S total content by combustion was established through CNS analyzer (CNS-2000). Ca, Mg, K, Na and P contents in plant were extracted by humid digestion with H₂SO₄ and H₂O₂ and in extract, Ca, Mg, K and Na were determined by atomic absorption and P by spectrophotometry. NH₄⁺ and NO₃⁻ contents in plants were determined by colorimetry by using an Analysis Spectrophotometer with Flux Injection (FIA in extracts obtained of 200 mg of vegetable ground tissue + 10 mL of distilled water and agitated at Water Bath during 1 hour at 85°C, after it were

cosecharon a las ocho semanas después de la siembra.

Cosecha y análisis de suelo y planta: La parte aérea de las plantas fueron cosechadas a 1cm sobre la superficie del suelo, luego se colocaron en estufa a 70°C por 48 horas y se determinó el peso seco aéreo por pote. En planta se determinó el contenido de N y S total por combustión en un analizador de CNS (LECO CNS-2000). Los contenidos de Ca, Mg, K, Na y P en planta fueron extraídos por digestión húmeda con H_2SO_4 y H_2O_2 , y en el extracto se determinó Ca, Mg, K y Na por absorción atómica y P por espectrofotocolorimetría. Los contenidos de NH_4^+ y NO_3^- en planta fueron determinados por colorimetría usando un Espectrofotómetro de análisis con inyección de flujo (FIA) en extractos obtenidos de 200 mg de tejido vegetal molido + 10 mL de agua destilada caliente y agitados en baño de maría por 1 hora a 85°C, luego centrifugados a 3500 rpm por 20 minutos y filtrados. El N orgánico se calculó por diferencia entre el N total – N inorgánico (NH_4^+ + NO_3^-). El contenido de S orgánico en planta se calculó multiplicando el contenido de N orgánico x 0,05 (8) y el contenido de SO_4^{2-} en planta se calculó por diferencia entre el contenido de S total y S orgánico. En suelo se determinó P disponible, extraído con $NaHCO_3$ 0,5 M y determinado por espectrofotocolorimetría (9), pH (en una relación 1:2,5 suelo: agua) y Ca intercambiable extraído con KCl 1N y determinado por absorción atómica. La eficiencia de utilización de P por las leguminosas se estimó como la producción de biomasa aérea producida por unidad de P aplicado.

Análisis estadísticos:

A los datos obtenidos se les rea-

centrifugó a 3500 rpm durante 20 minutos y filtrado posteriormente. N orgánico se estimó por diferencia entre N total – N inorgánico (NH_4^+ and NO_3^-). Organic S content in plant was calculated by multiplying organic N content x 0.05 (8) and SO_4^{2-} in plant was estimated by difference between total S and organic S. In soil, P available was determined, extracted with $NaHCO_3$ 0.5 M, and by using spectrophotocolorimetry (9), PH (in a relationship 1:2; 5) soil : water) and exchangeable Ca extracted with KCl 1N and determined by atomic absorption. P efficient use by leguminous crops was estimated like aerial biomass produced by P unit applied.

Statistical Analysis: Analysis of variance was made by using the program for split plot design of Statistical Analysis System (SAS V8). These parameters in where F values resulted significant ($P < 0.05$) means comparison was made by leguminous type effect, P treatment and its interactions.

Results and discussion

Aerial dry matter and total N accumulated in plant.

There was significant differences ($P < 0.05$) in the aerial dry matter production between leguminous type x P treatment interaction (table 1). Between grain leguminous, Cowpea showed the highest value of aerial dry matter by means of P treatments ($10.1 \text{ g} \cdot \text{pot}^{-1}$) whereas between forage leguminous, Indigo showed the higher value ($9.4 \text{ g} \cdot \text{pot}^{-1}$) followed by Stylosanthes (6.5

lizó análisis de varianza usando el programa para diseño de parcelas divididas del Sistema de Análisis Estadístico (SAS V8) y luego en aquellos parámetros donde los valores de F resultaron significativos ($P < 0,05$) se realizó la comparación de medias por efecto del tipo de leguminosa, tratamiento de P y sus interacciones.

Resultados y discusión

Materia seca aérea y N total acumulado en planta

Hubo diferencias significativas ($P < 0,05$) en la producción de materia seca aérea entre tipos de leguminosa, por efecto de tratamiento de P y la interacción tipo leguminosa x tratamiento de P (cuadro 1). Entre las leguminosas de grano, el Fríjol presentó el mayor valor de materia seca aérea promediado por tratamientos de P ($10,1 \text{ g} \cdot \text{maceta}^{-1}$), mientras que entre las leguminosas forrajeras, el Añil presentó el mayor valor ($9,4 \text{ g} \cdot \text{maceta}^{-1}$), seguido por el Estilosantes ($6,5 \text{ g} \cdot \text{maceta}^{-1}$). En general, la producción de materia seca se incremento con la dosis de P, sin embargo el Estilosantes, Añil y Fríjol produjeron mas del 80% del total de materia seca (91, 89 y 80% respectivamente), con solo $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de P. Con el tratamiento control sin P, la producción de materia seca del Fríjol fue 3 veces mayor que en la Soya y 2,5 veces mayor que en el Quinchoncho. Mientras que el Añil y el Estilosantes con el tratamiento control sin P presentaron similar capacidad de producción de materia seca y 2,8 veces mayor que la Crotalaria. Esto indica que el Fríjol, Estilosantes y Añil

$\text{g} \cdot \text{pot}^{-1}$). In general, dry matter production increased with P dose, however, Stylosanthes, Indigo and Cowpea produced more than 80% of dry matter total (91.89 and 80% , respectively) only with $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ of P. With control treatment without P, Cowpea dry matter production was 3 times higher than in Soybean and 2.5 times higher than Pigeon pea. Whereas in Indigo and Stylosanthes, with control treatment without P, they showed similar capacity of dry matter production, and 2.6 times higher than Crotalaria. It shows that Cowpea, Stylosanthes and Indigo have a higher capacity for surviving in conditions of margin soils deficient in P, in comparison with Soybean, Pigeon pea and Crotalaria.

Nodulation and total N accumulated in plants.

There was significative differences ($P < 0.05$) in nodule fresh weight and total N quantity accumulated in plant between leguminous type, by P treatments effects and its interaction (table 1). Nodules fresh weight values and N total quantity accumulated in plants increased when P dose was increased, applied in each leguminous type, in agreement with said by Marchner (1) and Israel (10) who pointed out that nodules in leguminous represents an important ground of P, so, P deficiency in soil could limit N_2 fixation.

Because poverty in organic matter of soils used (0.83) with low potential for supplying N by mineralization of N organic from soil and because N mineral was not applied in the essay, it can be

Cuadro 1. Materia seca aérea (MS en g.maceta⁻¹), peso fresco de nódulos (PFN en g.maceta⁻¹), concentración de N total (CN en %) y N total acumulado (NA en mg.maceta⁻¹) en la biomasa aérea de las leguminosas evaluadas, en función de la dosis de P aplicado.

Table 1. Aerial dry matter (DM in g.pot⁻¹), nodules fresh weight (NFW in g.pot⁻¹), N total concentration (NC in %) and N accumulated (AN in mg.pot⁻¹) in the aerial biomass of leguminous studied, in function of P dose applied.

Dosis de P (mg.kg ⁻¹)	Soya				Frijol				Quinchoncho			
	MS	PFN	CN	NA	MS	PFN	CN	NA	MS	PFN	CN	NA
0	1,5	0,07	2,8	38,4	4,3	0,68	2,7	115,3	1,7	0,20	1,6	28,4
25	4,1	1,18	2,1	85,0	10,5	4,00	2,9	297,9	3,2	1,35	2,1	71,8
50	5,2	1,74	1,7	88,5	12,3	4,16	3,1	377,4	3,7	1,38	1,8	66,6
75	5,2	2,75	2,1	129,1	13,2	5,71	3,1	405,9	4,3	1,86	1,9	80,5
Promedio	4,2	1,43	2,2	85,3	10,1	3,64	2,9	299,1	3,3	1,20	1,9	61,8

Dosis de P (mg.kg ⁻¹)	Estilosantes				Crotalaria				Añil			
	MS	PFN	CN	NA	MS	PFN	CN	NA	MS	PFN	CN	NA
0	3,2	0,25	1,7	55,7	1,1	0,28	2,0	22,6	2,7	0,38	2,3	62,6
25	7,3	0,93	2,5	181,6	3,8	2,52	1,7	66,4	11,2	3,20	3,1	347,8
50	7,7	1,04	2,7	204,8	4,7	3,47	2,0	94,8	10,9	3,83	3,0	388,3
75	8,0	1,10	3,0	238,3	5,8	4,86	1,9	111,5	12,6	4,07	3,1	420,6
Promedio	6,5	0,83	2,5	170,1	3,9	2,78	1,9	73,8	9,4	2,87	2,9	304,8

MDS 0,05 por efecto de Cultivo 0,67 para MS; 0,39 para PFN; 0,23 para CN y 22,73 para NA.

MDS 0,05: por efecto de Tratamiento de P= 0,55 para MS; 0,32 para PFN; 0,19 para CN y 18,56 para NA.

MDS 0,05 por efecto de Cultivo x Trat.de P= 1,34 para MS; 0,78 para PFN; 1,45 para CN y 45,46 para NA.

presentan mayor capacidad para sobrevivir en condiciones de suelos marginales deficientes en P, que la Soya, Quinchoncho y Crotalaria.

Nodulación y N total acumulado en planta:

Hubo diferencias significativas ($P < 0,05$) en peso fresco de nódulos y cantidad de N total acumulado en planta, entre tipos de leguminosa, por efecto de tratamientos de P y sus interacciones (cuadro 1). Los valores de peso fresco de nódulos y la cantidad de N total acumulado en planta incrementaron con el aumento de la dosis de P aplicado en cada tipo de leguminosa, lo cual se corresponde con lo señalado por Marschner (1) e Israel (10) quienes señalan que en leguminosas, los nódulos representan un importante sumidero de P, por lo cual la deficiencia de P en suelo puede limitar la fijación de N_2 .

Debido a que el suelo utilizado es pobre en materia orgánica (0,83%), por lo tanto de bajo potencial para suplir N por mineralización del N orgánico en el suelo, y a que en el ensayo no se aplicó N mineral, se puede asumir que la mayor parte del N total acumulado en la planta provino de la fijación biológica de N_2 . Hubo una alta y positiva relación lineal entre el peso fresco de nódulos y el N total acumulado en planta (figura 1, $r = 0,99$ para Estilosantes y Añil; $r = 0,97$ para Fríjol y $r = 0,80$ para Soya, Quinchoncho y Crotalaria), donde destaca la alta eficiencia del Estilosantes para fijar N_2 (valor promedio de 204,9 mg de $N \cdot g^{-1}$ de nódulo), seguido del Añil (106,2 mg de $N \cdot g^{-1}$ de nódulo) y el Fríjol (82,2 mg de $N \cdot g^{-1}$ de nódulo). Sin embargo, la acumulación de N

assumed that higher part of N total accumulated in plant came from biological fixation of N_2 . There was a high and positive linear relationship between nodule fresh weight and N total accumulated in plant. (figure 1, $r = 0.99$ for Stylosanthes and Indigo; $r = 0.97$ for Cowpea and $r = 0.80$ for Soybean, Pigeon pea and Crotalaria), where the high efficiency of Stylosanthes for fixing N_2 (mean value of 204.9 mg of $N \cdot g^{-1}$ nodule), followed by Indigo (106.2 mg of $N \cdot g^{-1}$ nodule) and Cowpea (82.2 mg of $N \cdot g^{-1}$ nodule). However, N total accumulation (table 1) was higher in Indigo (mean value of 304.8 $mg \cdot pot^{-1}$) and in Cowpea (299.1 $mg \cdot pot^{-1}$) than in Stylosanthes (170.1 $mg \cdot pot^{-1}$). Cowpea and Indigo produced higher nodules and a higher N content aerial biomass than Stylosanthes. Leguminous with lower accumulation were Soybean (83.5 $mg \cdot pot^{-1}$), Crotalaria (73.8 $mg \cdot pot^{-1}$) and Pigeon pea (61.8 $mg \cdot pot^{-1}$).

There was a high and positive linear relation ($r = 0.96$) between P absorbed and N fixed by evaluated leguminous (figure 2) which agree with reported by Israel (10) who says that in leguminous, especially Soybean, there is a high dependence of N fixation in P supply. In general, P accumulation in plant presented the following diminishing order: Indigo > Cowpea > Stylosanthes > Crotalaria > Soybean = Pigeon pea (table 2).

P utilization efficiency:

Defined like biomass quantity produced by P unit applied, P use efficiency of RFR showed the following diminish order: Indigo \geq Cowpea > Stylosanthes > Soybean \geq Crotalaria \geq Pigeon pea (figure 3). Relationship aerial biomass production/P unit given, diminished in a drastic way in Indigo, Cowpea and Stylosanthes in

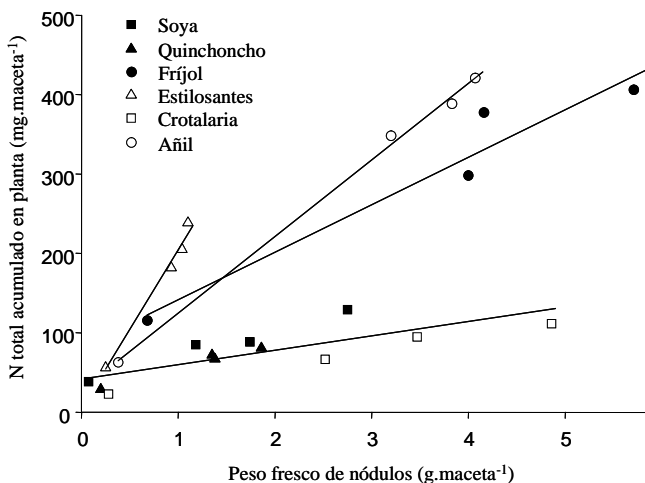


Figura 1. Relación entre peso fresco de nódulos ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) y el nitrógeno total acumulado ($\text{mg}\cdot\text{maceta}^{-1}$) en la biomasa aérea de las leguminosa evaluadas. Valores promedios.

Figure 1. Relationship between fresh weight of nodules ($\text{g}\cdot\text{pot}^{-1}$) and the total nitrogen accumulated ($\text{mg}\cdot\text{pot}^{-1}$) in the biomass of leguminous evaluated. Mean values.

total (cuadro 1) fue mayor en Añil (valor promedio de $304,8 \text{ mg}\cdot\text{maceta}^{-1}$) y en Frijol ($299,1 \text{ mg}\cdot\text{maceta}^{-1}$) que en Estilosantes ($170,1 \text{ mg}\cdot\text{maceta}^{-1}$). Esto se debió a que el Frijol y el Añil produjeron nódulos más grandes y mayor biomasa aérea que el Estilosantes. Las leguminosas con menor acumulación de N total fueron Soya ($83,5 \text{ mg}\cdot\text{maceta}^{-1}$), Crotalaria ($73,8 \text{ mg}\cdot\text{maceta}^{-1}$) y Quinchocho ($61,8 \text{ mg}\cdot\text{maceta}^{-1}$).

Hubo una alta y positiva relación lineal ($r=0,96$) entre el P absorbido y el N fijado por las leguminosas evaluadas (figura 2), lo cual se corresponde con lo reportado por Israel (10) quien señala que en las leguminosas, particularmente en Soya, existe una alta dependencia de la fijación de N_2 en el suministro de P. En general la

proporción as P supply increased (external P) which indicates a declination in P internal use for producing biomass. This indicates that Indigo, Cowpea and Stylosanthes shows a higher efficiency when using P from RPR in soils deficient of this element than Soybean, Crotalaria and Pigeon pea. These results are in agreement with those reported by Ascensio and Lazo (11), their results indicated that Cowpea showed high efficiency in P use in treatments with low soluble sources (KH_2PO_2) and the Cowpea is more efficient than Pigeon pea in P use of low soluble sources.

Cations excess in plants and its relationship with P use efficiency from phosphate rock:

As expected, for noduled leguminous in where the higher part

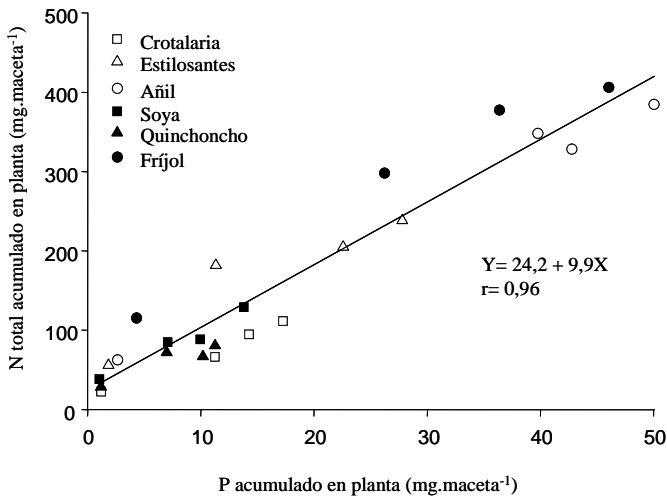


Figura 2. Relación entre P absorbido y el N total acumulado en las leguminosas de grano (símbolos sólidos) leguminosas forrajeras (símbolos vacíos).

Figure 2. Relationship between P absorbed and N total accumulated in grain leguminous (solid symbols) and forrages leguminous (empty symbols).

acumulación de P en planta presentó el siguiente orden decreciente. Añil > Fríjol > Estilosantes > Crotalaria > Soya = Quinchoncho (cuadro 2).

Eficiencia en la utilización de P

Definida como la cantidad de biomasa producida por unidad de P aplicado, la eficiencia de utilización de P de la RFR presentó el siguiente orden decreciente entre las leguminosas evaluadas: Añil \geq Fríjol > Estilosantes > Soya \geq Crotalaria \geq Quinchoncho (figura 3). La relación producción de biomasa aérea/unidad de P suministrado, disminuyó drásticamente en Añil, Fríjol y Estilosantes, a medida que aumentó el suministro de P (P externo), lo cual indica un declive en la utilización interna del P para producir biomasa. Esto indica que el Añil, Fríjol y

of N total accumulated in plant comes from biological fixation of N_2 , sum of accumulated cations in plant (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} and Na^+) exceed the anions sum ($H_2PO_4^-$ and SO_4^{2-}) at every leguminous studied (table 2) by generating a cations excess every them (figure 4).

Generally, after N, K is the mineral element required by plants in higher quantity (1). However, in this experiment, Indigo, Cowpea and Stylosanthes showed the higher Ca absorption than K, in control treatment without P as well as in RFR treatment (table 2).

Because of using a P deficient soil ($5.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and Ca ($0.26 \text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$) and Ca was not applied, only supplied by phosphate rock, it can be said that the higher part of Ca absorbed by

Cuadro 2. Valores promedios de cationes (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺ y Na⁺), aniones (H₂PO₄⁻ y SO₄²⁻) y suma de cationes (SC) y aniones (SA) en las leguminosas con roca fosfórica (+RFR) y control sin P (-P).**Table 2. Cations mean values (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺ and Na⁺), anions (H₂PO₄⁻ and SO₄²⁻) and cations sum (SC) and anions (SA) in leguminous with phosphate rock (+RFR) and control without P (-P).**

Leguminosa	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	SC	H ₂ PO ₄ ⁻	SO ₄ ²⁻	SA
-----me.pote ⁻¹ -----								
Soya								
-P	0,26	0,48	0,77	0,01	1,52	0,03	0,22	0,25
+RFR	1,03	1,22	2,16	0,02	4,43	0,33	0,45	0,78
Fríjol								
-P	1,72	1,45	2,97	0,04	6,18	0,14	0,81	0,95
+RFR	6,38	2,27	4,91	0,12	13,68	1,17	2,87	4,04
Quinchoncho								
-P	0,47	0,39	0,70	0,01	1,57	0,04	0,41	0,45
+RFR	1,32	0,67	1,47	0,03	3,50	0,31	0,96	1,27
Estilosantes								
-P	1,74	0,76	1,77	0,02	4,28	0,06	0,60	0,66
+RFR	4,96	1,37	4,74	0,06	11,13	0,75	0,87	1,62
Crotalaria								
-P	0,29	0,41	0,78	0,02	1,50	0,04	0,37	0,41
+RFR	1,90	1,22	2,43	0,09	5,64	0,46	2,39	2,85
Añil								
-P	1,01	0,74	1,36	0,03	3,14	0,09	1,09	1,18
+RFR	10,18	2,02	6,07	0,11	18,42	1,42	1,26	2,68

MDS 0,05 = 1,0 para Suma de Cationes y 0,17 para Suma de Aniones por efecto del tipo de leguminosa.

Estilosantes presentan mayor eficiencia en utilizar P de la RFR, en suelos deficientes en este elemento, que la Soya, Crotalaria y Quinchoncho. Estos resultados se corresponden con los reportados por Ascencio y Lazo (11), cuyos resultados indican que el Fríjol presentó mayor eficiencia en el uso del P en los tratamientos con fuentes poco solubles (fosfatos de calcio y de hierro), que con la fuente de P soluble (KH₂PO₄) y que el Fríjol es más efi-

plants came from RFR dissolution. Values of Ca accumulated in plant, mean by leguminous type, shows that the higher Ca accumulation happened in Indigo (10.18 me.pot⁻¹), Cowpea (6.38 me.pot⁻¹) and Stylosanthes (4.96 me.pot⁻¹) which is in relation to crops with high cations excess (figure 4) and high efficiency for using P from RFR (figure 3). These results are in agreement with Van Raig and Van Diest (12) who found that Buckwheat,

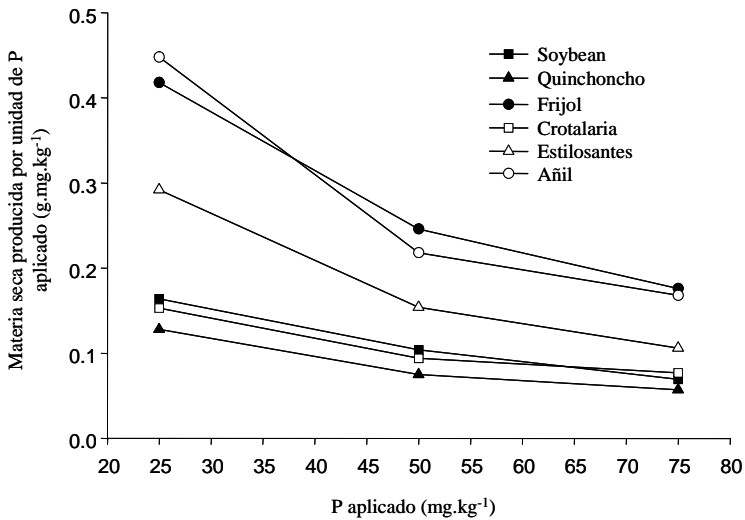


Figura 3. Relación entre la eficiencia de utilización del P de la roca fosfórica Riecito (expresada en gramos de biomasa aérea producida por mg de P aplicado) y la dosis de P aplicados en las leguminosas evaluadas. Valores promedio de tres repeticiones.

Figure 3. Relationship between P use efficiency from phosphate rock Riecito (expressed in aerial biomass grams produced by mg of P applied) and P doze applied in leguminous evaluated. Mean value of three replications.

ciente que el Quinchoncho en el uso del P de fuentes poco solubles.

Exceso de cationes en la planta y su relación con la eficiencia de uso del P de roca fosfórica:

Como se esperaba para leguminosas noduladas, donde la mayor parte del N total acumulado en planta proviene de la fijación biológica del N₂, la suma de cationes acumulados en planta (K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, y Na⁺) excedió la suma aniones (H₂PO₄⁻ y SO₄²⁻) en todas las leguminosas estudiadas (cuadro 2), generando un exceso de cationes en todas ellas (figura 4).

Generalmente, luego del N, el K es el elemento mineral requerido por

a crop with high capacity for using P from phosphate rocks, showed high absorption of Ca than K. Robinson *et al.* (6) said that a high extraction of Ca by culture could maintain a low Ca level in soil solution, favoring the RF dissolution.

Cations excess effect in plant on PH and P availability in soil:

It is known, plants have to maintain a charge internal balance and a cytoplasm PH between 7.0 and 8.0. When plant accumulate a cations excess, the positive charges excess is released through proton extrusion (H⁺) toward rhyzosphere (13) which could acidify rhyzosphere and

las plantas en mayor cantidad (1). Sin embargo, en este experimento, el Añil, Fríjol y Estilosantes presentaron mayor absorción de Ca que de K, tanto en el tratamiento control sin P como en el tratamiento con RFR (cuadro 2).

Dado que se utilizó un suelo deficiente en P ($5,0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) y Ca ($0,26 \text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$) y que no se aplicó Ca, más que el aportado con la roca fosfórica, se puede decir que la mayor parte del Ca absorbido por las plantas provino de la disolución de la RFR. Los valores de Ca acumulado en planta, promediados por tipo de leguminosa, indican que la mayor acumulación de Ca ocurrió en Añil ($10,18 \text{ me}\cdot\text{maceta}^{-1}$), Fríjol ($6,38 \text{ me}\cdot\text{maceta}^{-1}$) y Estilosantes ($4,96 \text{ me}\cdot\text{maceta}^{-1}$), lo cual se correspondió

promoting solubilization of soil phosphates.

In this essay, there were significative differences in soil PH values by effect of leguminous type (table 3). Stylosanthes and Indigo decreased soil PH in 0.38 and 0.34 PH units respectively, in relation to original soil PH (PH 5.0) followed by Crotalaria and Pigeon pea (0,18 PH units), Cowpea (0.16 PH units) and Soybean (0.05 PH units). Perez and Smith (7) by isolating soil from rhyzosphere and no-rhyzosphere found that Stylosanthes with RFR treatment, diminished rhyzosphere PH in 0.82 units in relation to no-rhyzosphere which indicates the importance of isolating rhyzosphere

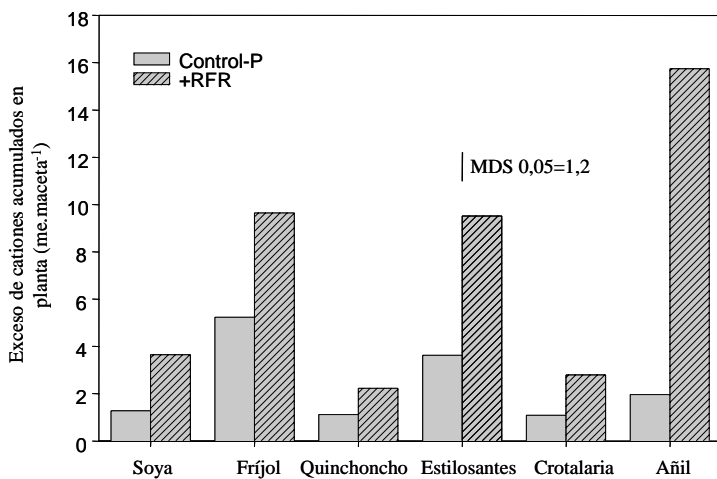


Figura 4. Exeso de cationes (suma de cationes - suma de aniones) acumulados en las leguminosa sin P (Control -P) y con roca fosfórica Riecito (+RFR). Valores de +RFR corresponde al promedio de las dosis de P.

Figure 4. Cations excess (cations sum - anions sum) accumulated in leguminous without P (Control -P) and with phosphate rock Riecito (+RFR). Values of +RFR correspond to the mean of P dozes.

con los cultivos con mayor exceso de cationes (figura 4) y mayor eficiencia para utilizar P de la RFR (figura 3). Estos resultados se corresponden con los encontrados por Van Raij y Van Diest (12) quienes encontraron que el Buckwheat, un cultivo con alta capacidad para utilizar P de rocas fosfóricas, presentó mayor absorción de Ca que de K. Robinson *et al.* (6) también han señalado que una alta extracción de Ca por el cultivo podría mantener un bajo nivel de Ca en la solución del suelo, favoreciendo la disolución de la RF.

Efecto del exceso de cationes en la planta sobre el pH y disponibilidad de P en el suelo

Es conocido que la planta debe mantener un balance interno de cargas y un pH citoplasmático entre 7,0 y 8,0. Cuando la planta acumula un exceso de cationes, presumiblemente, el exceso de cargas positivas es liberado mediante la extrusión de protones (H^+) hacia la rizosfera (13), lo cual puede acidificar la rizosfera y promover la solubilización de los fosfatos en el suelo.

En este estudio, se encontraron diferencias significativas en los valores de pH del suelo por efecto del tipo de leguminosa (cuadro 3). El Estilosantes y el Añil disminuyeron el pH del suelo en 0,38 y 0,34 unidades de pH respectivamente, en relación al pH original del suelo (pH 5,0), seguidos por Crotalaria y Quinchoncho (0,18 unidades de pH), Frijol (0,16 unidades de pH) y Soya (0,05 unidades de pH). Pérez y Smyth (7) aislando suelo de la rizosfera y la no-rizosfera, encontraron que el Estilosantes con el tratamiento de RFR, disminuyó el pH de la rizosfera en 0,82 unidades de pH en relación a la no-rizosfera, lo cual indica la importancia de aislar suelo de la rizosfera, cuando

soil when studying biochemical changes of rhyzobium level.

P availability in soil increased with P dose, which shows RFR solubilization (table 4). Although Cowpea and Indigo showed the higher dry matter values (table 1) and consequently (table 2) these 2 crops maintain higher values of P available on soil with RFR treatment without P (table 4) which indicates that Cowpea and Indigo are highly efficient by dissolving and using RFR followed by Stylosanthes.

There was a high and positive lineal relation ($r=0.92$) between these cations excess and P available in soil (figure 5) in where Indigo and Cowpea shows the higher P availability and the excess of accumulated cations, followed by Stylosanthes.

Conclusions

Efficiency of evaluated leguminous for using P of RFR showed the following diminishing order: Indigo \geq Cowpea $>$ Stylosanthes $>$ Soybean \geq Crotalaria \geq Pigeon pea.

Higher efficiency of Indigo, Cowpea and Stylosanthes for using P of RFR was associated with Ca and N total in plant accumulation and a cations excess, in relation to Soybean, Crotalaria and Pigeon pea.

Relative values of Ca content and cations excess accumulated in plants, could serve as indicators for choosing crops by its efficiency for using P from phosphate rocks, from medium to high reactivity, like RFR.

Although it is not attractive for livestock feeding, Indigo due to its

Cuadro 3. Valores promedios de pH del suelo, en función del tipo de leguminosa y tratamiento de P.**Table 3. Soil PH mean values, in function of leguminous type and P treatment.**

Tratamiento de P (mg.kg ⁻¹)	Soya	Quinchoncho	Fríjol	Crotalaria	Estilosantes	Añil
-----pH del suelo-----						
0	4,94	4,72	4,72	4,92	4,66	4,69
25	4,98	4,78	4,93	4,75	4,53	4,46
50	4,90	4,89	4,76	4,77	4,64	4,59
75	4,96	4,88	4,93	4,84	4,63	4,88
Promedio	4,95	4,82	4,84	4,82	4,62	4,66

MDS 0,05: por efecto de la leguminosa = 0,10; por Tratamiento de P = 0,08 y por Legum. x Tratam. de P = 0,21

se trata de estudiar los cambios bioquímicos a nivel de rizosfera.

La disponibilidad de P en suelo se incremento con la dosis de P, lo cual indica solubilización de la RFR (cuadro 4). A pesar que el Fríjol y el Añil presentaron los mayores valores de materia seca (cuadro 1) y en consecuencia mayor extracción de P del suelo y acumulación de P en la planta (cuadro 2), estos dos cultivos mantuvieron los mayores valores de P disponible en suelo con los tratamientos de RFR y con el tratamiento control sin P (cuadro 4), lo cual indica que el Fríjol y el Añil son altamente eficientes en disolver y utilizar la RFR, seguido por el Estilosantes.

Hubo una alta y positiva relación lineal ($r=0,92$) entre este exceso de cationes y la P disponible en el suelo (figura 5), donde destacan el Añil y el Fríjol con la mayor disponibilidad de P y exceso de cationes acumulados, igualmente seguidos por Estilosantes.

Conclusiones

La eficiencia de las leguminosas evaluadas, para utilizar el P de la

little P requirement and high efficiency in dissolving RFR could be consider like an excellent cover crop and a green manure for improving fertility level of acid soils, P and Ca deficient.

Between grain leguminous, cowpea presents a high capacity for dissolving and extracting P and Ca in deficient margin soils in these elements, thereby present a high potential for using RFR.

Acknowledgement

Authors want to express there thamts to FONACIT-INIA by co-financing offered to this proyect N° S1-2001000984.

End of english version

RFR presentó el siguiente orden decreciente: Añil \geq Fríjol $>$ Estilosantes $>$ Soya \geq Crotalaria \geq Quinchoncho.

La mayor eficiencia del Añil, Fríjol y Estilosantes para utilizar P

Cuadro 4. Valores promedios de P disponible en suelo, en función del efecto del tipo de leguminosa y tratamiento de P.

Table 4. P mean values available in soil, in function of leguminous type effect and P treatment.

Tratamiento de P (mg.kg ⁻¹)	Soya	Quinchoncho	Fríjol	Crotalaria	Estilosantes	Añil
0	4,0	5,3	6,2	5,4	6,0	7,2
25	18,5	22,9	23,1	17,1	21,0	21,6
50	21,9	26,6	32,5	21,2	28,1	31,6
75	27,4	30,9	33,1	28,9	32,7	36,4
Promedio	18,0	21,4	23,7	18,1	22,0	24,2

MDS 0,05: por efecto de la leguminosa= 2,0; por Tratamiento de P= 1,7 y por efecto Legum. x Trat. de P= 4,1

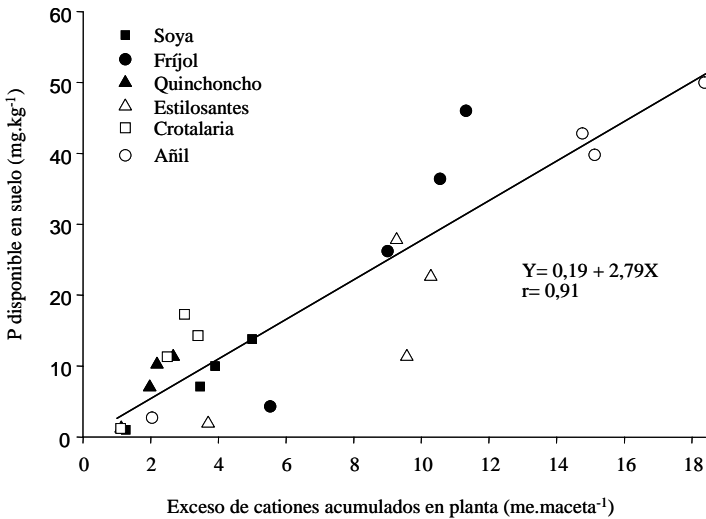


Figura 5. Relación entre exceso de cationes acumulados en planta y la disponibilidad de P en suelo. Valores promedios de tres repeticiones.

Figure 5. Relationship between cations excess accumulated in plant and P availability in soil. Mean values of three replications.

de la RFR, estuvo asociada con una mayor acumulación de Ca y N total en planta y un exceso de cationes, en relación a la Soya, Crotalaria y Quinchoncho.

Los valores relativos del contenido de Ca y exceso de cationes acumulados en planta, pudieran servir como indicadores para seleccionar cultivos por su eficiencia para utilizar P de rocas fosfóricas de mediana a alta reactividad, como la RFR.

Aunque poco apetecible para la alimentación del ganado, el Añil por su bajo requerimiento en P y alta eficiencia en disolver la RFR, pudiera considerarse como un excelente cultivo de cobertura y abono verde para mejorar el nivel de fertilidad de suelos ácidos, deficientes en P y Ca.

Entre las leguminosas de grano, el Fríjol presenta alta capacidad para disolver y extraer P y Ca en suelos marginales deficientes en estos elementos, por lo tanto, presenta un alto potencial para utilizar la RFR.

Agradecimiento

Los autores desean expresar su agradecimiento al FONACIT-INIA por el cofinanciamiento a esta investigación No. S1-2001000984.

Literatura citada

1. Marschner, H. 1995. The soil-root interface (Rhizosphere) in relationship to mineral nutrition. In: Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London, Second Edition.
2. Hoffland, E., G.R. Findenegg, y J.A. Nelemans. 1989. Solubilization of rock phosphate by rape. Plant and Soil. 113: 161-165.

3. De Swart, P.H. y A.Van Diest. 1987. The rock phosphate solubilizing capacity of *Pueraria javanica* as affected by soil pH, superphosphate priming effect and symbiotic N₂ fixation. Plant and Soil 100:135-147.
4. Jarvis, S.C. y A.D. Robson. 1983. The effects of nitrogen nutrition of plants on the development of acidity in Western Australian soils. I. Effects with subterranean clover grown under leaching conditions. Aust. J. Agric. Res. 34: 341-353.
5. Khasawneh, F.E y E.C. Doll. 1978. The use of phosphate rock for direct application to soil. Adv. in Agron. 30: 159-204.
6. Robinson, J.S. y J.K. Syers. 1991. Effects of solution calcium concentration and calcium sink on the dissolution of Gafsa phosphate rock in soils. J. Soil Sci. 42: 389-397.
7. Pérez, M.J. y T.J. Smyth. 2005. Efecto de la planta sobre el pH de la rizosfera y disolución de rocas fosfóricas. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 22 (3): 143-156.
8. Dijkshoorn, W. y A.L. Van Wijk. 1967. The sulphur requirements of plants as evidenced by the sulfur-nitrogen ratio in the organic matter: a review of published data. Plant Soil 26: 129-157.
9. Murphy, J. y J.P. Riley. 1962. A modified single extraction solution method for the determination of phosphate in natural waters. Analytical Chimica Act. 27: 31-36.
10. Israel, D.W. 1987. Investigation of the role of phosphorus in symbiotic dinitrogen fixation. Plant Physiol. 84: 835-840.
11. Ascencio, J y J.V. Lazo. 2001. Crecimiento y eficiencia de fósforo de algunas leguminosas cultivadas en arena regada con soluciones nutritivas con fosfatos inorgánicos de hierro y calcio. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 18: 13-32.

12. Van Raij, B. y A. Van Diest. 1979. Utilization of phosphate from different sources by six plant species. *Plant and Soil* 51: 577-589.
13. Israel, D.W. y W.A. Jackson. 1982. Ion balance, uptake, and transport processes in N_2 -fixing and nitrate- and uréa- dependent soybean plants. *Plant Physiol.* 69: 171-178.