

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
FACULTAD DE AGRONOMIA
MONTEVIDEO - URUGUAY

DISMINUCION PROGRESIVA DEL DESARROLLO
DEL TREBOL SUBTERRANEO (*Trifolium subterraneum*)
Y CAUSAS DE LA PRESENCIA DE COLORACION ROJA
EN SUS HOJAS

FOR

HERMANN D. TOBLER BOTTINI y LUCIA KOCH DE BROTONS

Disminución progresiva
del desarrollo del trébol subterráneo
(*Trifolium subterraneum*) y causas de la presencia
de coloración roja en sus hojas *

HERMANN D. TOBLER BOTTINI **
y LUCÍA KOCH DE BROTONS ***

INTRODUCCION

La implantación de praderas artificiales en algunos establecimientos ganaderos de nuestro país permitió observar que algunas plantas de trébol subterráneo no se desarrollan normalmente, que permanecen reducidas en tamaño, y que sus hojas toman una coloración rojiza. Estos síntomas aparecen, en praderas recién sembradas, con los primeros fríos de otoño.

Algunas de las plantas afectadas desaparecen; pero la mayoría continúa vegetando, en forma limitada durante todo el invierno. A fines de primavera florecen y forman semillas, aunque éstas son más pequeñas que las normales. Al año siguiente, después de la resiembra natural, esos síntomas no se repiten, y si aparecen, lo hacen en menor proporción.

Las plantas con hojas rojas y de escaso desarrollo forman manchones o zonas, de extensión variable, que alcanzan su mayor amplitud en las partes bajas de las praderas. Estos manchones son visibles desde lejos, porque su coloración rojiza contrasta con el color verde del resto de la pradera.

Estas observaciones se efectuaron en praderas de trébol subterráneo que, por lo general, antes de la siembra habían sido inoculadas con colonias comerciales de *Rhizobium* procedentes de los EE. UU.

* Trabajo realizado en la División Fitopatología, del Departamento de Controlador de Plagas Agrícolas, de la Dirección de Agronomía del Ministerio de Ganadería y Agricultura, en colaboración con el Departamento de Química, de la Facultad de Agronomía de Montevideo.

** Jefe de Departamento y Profesor de Química de la Facultad de Agronomía de Montevideo, Uruguay.

*** Jefe de la División Fitopatología, de la Dirección de Agronomía de Montevideo.

Los productores atribuían los síntomas antes mencionados a algunas de las causas siguientes: efectos del frío; carencia de ciertos elementos trazas; asfixia de las raíces por exceso de humedad en los bajos; inadaptabilidad de la semilla importada, etc.

Este problema fue planteado, por primera vez, en el año 1954, al primero de los autores de este trabajo, quien realizó un ensayo, fertilizando praderas de trébol subterráneo con P-K-Mg y N, solos y en combinación. Este ensayo no permitió llegar a ninguna conclusión.

En 1955, el mismo autor ensayó la aplicación de sulfato de amonio en plantas enmacetadas, y pulverizaciones con molibdato de amonio en praderas artificiales, sin resultado alguno. En la Facultad de Ingeniería y Agrimensura de Montevideo, la ingeniera Sra. I. W. Eweson (1) realizó un trabajo de investigación comparativa sobre el contenido de elementos trazas en hojas provenientes de plantas normales y de plantas con coloración rojiza. Este trabajo tampoco permitió llegar a conclusión alguna con referencia a la causa determinante de la presencia de coloración rojiza en las hojas de trébol subterráneo.

En 1956, los autores de este trabajo planearon un ensayo que, con posterioridad, fue ampliado durante el transcurso del año 1957.

ENSAYO DEL AÑO 1956

Este ensayo consistió en enmacetar, en el mes de junio, 18 plantas de trébol subterráneo, variedad Mount Barker, cuyas hojas presentaban la coloración roja y cuyo desarrollo era menor que el de las plantas verdes normales. Procedían de una pradera artificial ubicada en el paraje de Aguas Blancas, en la 2ª Sección Judicial del Departamento de Lavalleja. La pradera artificial, sembrada en el mes de marzo de 1956, estaba formada por una mezcla de trébol rojo (*Trifolium pratense*), trébol subterráneo (*Trifolium subterraneum*) y ray grass (*Lolium italicum*). Las semillas de los tréboles habían sido inoculadas antes de la siembra con Nitragin, del grupo para tréboles. Esta pradera presentaba un 35 por ciento de plantas con hojas de color rojizo y escaso desarrollo.

Doce de estas macetas se guarecieron bajo invernáculo, sin calefacción, mientras que las seis restantes permanecieron a la intemperie, ordenadas en dos grupos de tres macetas cada uno. Uno de estos grupos se regaba diariamente para que las plantas se desarrollaran en un ambiente de excesiva humedad en el suelo, y el otro grupo se regaba solamente cuando el estado de la planta lo requería.

Las plantas vegetaron lentamente, aunque las que permanecieron bajo invernáculo alcanzaron un desarrollo mayor que las que permanecieron a la intemperie. En todas las plantas continuó la formación de hojas rojas, en mayor o menor cantidad.

Esta observación indujo a descartar al exceso de humedad y al frío, como posibles factores causantes de la afección bajo estudio.

A mediados del mes de octubre fue necesario pasar las plantas a macetas de mayor tamaño. Con excepción de una maceta que fue rellena con tierra de la huerta de Sayago (planta N° 3), las demás se rellenas con tierra extraída de un borde de la pradera artificial, de la cual provenían las plantas en ensayo.

Como no se observaran diferencias fundamentales, el 26 de octubre de 1956 se aplicó, a las plantas de tres macetas, tetraborato de sodio a razón de 25 kilos por Há. En esa misma fecha, la planta de otra maceta fue tratada con carbonato de calcio purísimo, a razón de 21.700 kilos por Há., más un agregado de fosfato de amonio a razón de 600 kilos por Há. A la planta de otra maceta se le aplicó fosfato de amonio a razón de 600 kilos por Há.

Un mes después, el 26 de noviembre, fueron tratadas otras tres plantas con tetraborato de sodio, a razón de 25 kilos por hectárea. Las plantas restantes, se conservaron como testigos.

A mediados de diciembre los tréboles comenzaron a secarse sin mostrar diferencia.

Estas macetas se conservaron, y permitieron observar que, a mediados de enero de 1957, por resiembra natural, comenzaban a nacer nuevas plantas de tréboles.

ENSAYO DEL AÑO 1957

En febrero de 1957, en macetas y bajo invernáculo, se iniciaron dos nuevos ensayos: el "E I 1957" y el "E II 1957".

La tierra utilizada en estos ensayos, provenía del borde de la pradera artificial ya mencionada en el Ensayo del año 1956.

Ambos ensayos fueron planeados con la finalidad de investigar la causa que provoca la presencia de coloración rojiza en las hojas de trébol subterráneo.

En cada uno de ellos se efectuaron doce tratamientos diferentes, y como cada tratamiento tuvo cinco repeticiones, se utilizaron en total sesenta macetas por ensayo.

Las macetas se dispusieron en forma tal, que cada ensayo comprendía cinco blocks. Individualmente, los blocks, estaban integrados por una serie que comprendía las doce variantes en estudio.

La siembra se realizó sin inoculación previa de Rhizobium. Se utilizaron semillas procedentes de plantas que, en el ensayo macetero de 1956, presentaban coloración rojiza en sus hojas.

La dosificación de los distintos elementos fertilizantes experimentados se realizó tomando en consideración, que una hectárea de tierra con veinte centímetros de profundidad, pesa 2:500.000 kilos, y que en cada maceta se emplearon dos kilos de tierra.

La diferencia entre el ensayo "E I" y el "E II" radicó en la circunstancia que en el primero, los fertilizantes fueron agregados a porciones de diez kilos de tierra, de las cuales posteriormente se retiraron los dos kilos correspondientes a cada maceta. En el ensayo "E I" se aplicaron las mismas dosis por hectárea, pero la aplicación se efectuó tomando en consideración la superficie expuesta de cada maceta. Como ésta era de dos decímetros cuadrados por maceta, mediante el empleo de soluciones, se agregó en forma superficial la 500.000 avas partes de la dosis empleada por hectárea.

En el cuadro Nº 1, se resumen las dosis empleadas por Há. y las sustancias utilizadas como portadoras de los distintos elementos fertilizantes ensayados.

CUADRO Nº 1

Composición del abono	Dosis aplicada por hectárea		
	Del abono	Del elemento	
Super triple	46,0 % P_2O_5	136 Kls.	60 Kls. de P_2O_5
Fosfato diamónico	$\left\{ \begin{array}{l} 53,7 \% P_2O_5 \\ 21,2 \% N \end{array} \right.$	112 "	60 " " P_2O_5
		112 "	24 " " N
Cloruro de potasio	60,0 % K_2O	100 "	60 " " K_2O
Molibdato de amonio	54,4 % Mo	230 grs.	125 grs. de Mo
Tetraborato de sodio		10 Kls.	
Carbonato de calcio 100 %		$\left\{ \begin{array}{l} 2.000 \\ 200 \end{array} \right.$	" "
			" "

El cuadro Nº 2 proporciona un detalle de los distintos tratamientos fertilizantes, por maceta, y permite verificar que, entre los dos ensayos, se contaba con diez repeticiones por tratamiento.

En las macetas numeradas del 31 al 35, la cal se aplicó a razón de 200 kilos por Há., para seguir las recomendaciones australianas cuando emplean en conjunto superfosfato de calcio, molibdeno y cal (2).

CUADRO Nº 2
Tratamientos por macetas

Nº de las macetas	Fertilizante aportado	Abono empleado
1, 2, 3, 4, 5	Cal	Carbonato de calcio precipitado.
6, 7, 8, 9, 10	Testigos	Ninguno.
11, 12, 13, 14, 15	Boro	Tetraborato de sodio.
16, 17, 18, 19, 20	N-P	Fosfato de amonio.
21, 22, 23, 24, 25,	N-P-K	Fosfato de amonio y cloruro de potasio.
26, 27, 28, 29, 30	P y Mo	Super triple y molibdato de amonio.
31, 32, 33, 34, 35	P-Mo-Cal	Super triple, molibdato de amonio y carbonato de calcio precipitado.
36, 37, 38, 39, 40	Mo	Molibdato de amonio.
41, 42, 43, 44, 45	N-P-Mo	Fosfato y molibdato de amonio.
46, 47, 48, 49, 50	N-P-K-Mo	Fosfato y molibdato de amonio más cloruro de potasio.
51, 52, 53, 54, 55	P	Superfosfato triple.
56, 57, 58, 59, 60	P-Mo	Super triple y tetraborato de sodio.

El ensayo "E I" se sembró el 2 de febrero, comenzando la germinación el 16 del mismo mes.

El ensayo "E II" se sembró el 26 de febrero y comenzó la germinación el 7 de marzo.

La germinación fue muy despareja, y a mediados del mes de mayo fue necesario trasplantar en algunas macetas plántulas provenientes de un ensayo de germinación, para no ver frustrado el ensayo. Por esta razón, el ensayo "E II" se sembró con más semillas por maceta. Se pudo verificar que en ambos ensayos continuaban germinando semillas hasta mediados del mes de junio. Estas nuevas plántulas no alcanzaban a desarrollarse, por impedírsele las ya presentes.

En el ensayo "E I", el 22 de abril se observó que las plantas estaban parasitadas con pulgones, y se procedió, en ambos ensayos, a efectuar un tratamiento con insecticidas.

Transcurrido unos días de efectuado el tratamiento contra los pulgones, en un block del ensayo "E I 1957", se observó el día 29 de abril una coloración roja en las hojas de la planta Nº 56, coloración que posteriormente se manifestó en otras plantas.

La particularidad principal de esta coloración radicó en la circunstancia de que todas las plantas que la presentaban ocupaban, dentro del block, un sitio adyacente a la ubicación de la planta N° 56.

La coloración roja en las hojas se manifestó en orden cronológico, en la siguiente forma: planta N° 51, el 2 de mayo; en las Nos. 46 y 41, el 11 de mayo; en las Nos. 6 y 26, el 21 de mayo; y en las Nos. 1 y 36, el 28 de mayo.

En el cuadro N° 3 se representa la posición ocupada por las plantas antes mencionadas.

CUADRO N° 3

26	36	16	21	37
6	46	1	11	52
51	56	41	31	42

Posteriormente, no aparecieron más plantas con hojas rojas en ninguno de los blocks de los dos ensayos.

Las plantas afectadas continuaron desarrollándose con mayor o menor número de hojas rojas, mientras que las restantes conservaron su coloración verde normal.

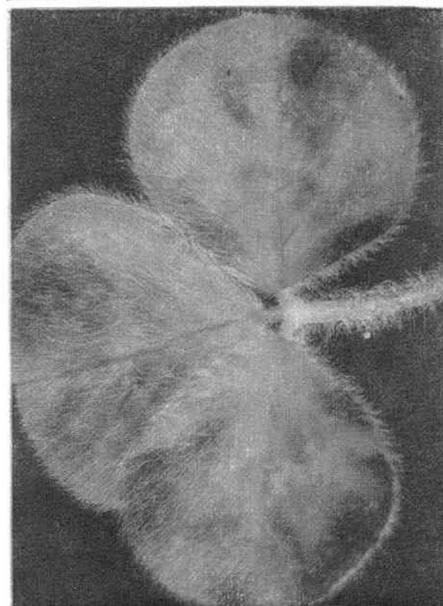
AFECCION VIROSA

La presencia de hojas rojas solamente en algunas plantas del ensayo "E I 1957"; su propagación a plantas vecinas circundantes, haciendo caso omiso de los diferentes tratamientos fertilizantes efectuados; su extensión en forma de mancha, circundando a la planta primeramente afectada; unido a la desaparición de pulgones por el tratamiento insecticida, y al cese repentino de la propagación a otras plantas, indujo a pensar en la posibilidad de estar en presencia de una afección virosa transmitida por pulgones.

Sintomatología

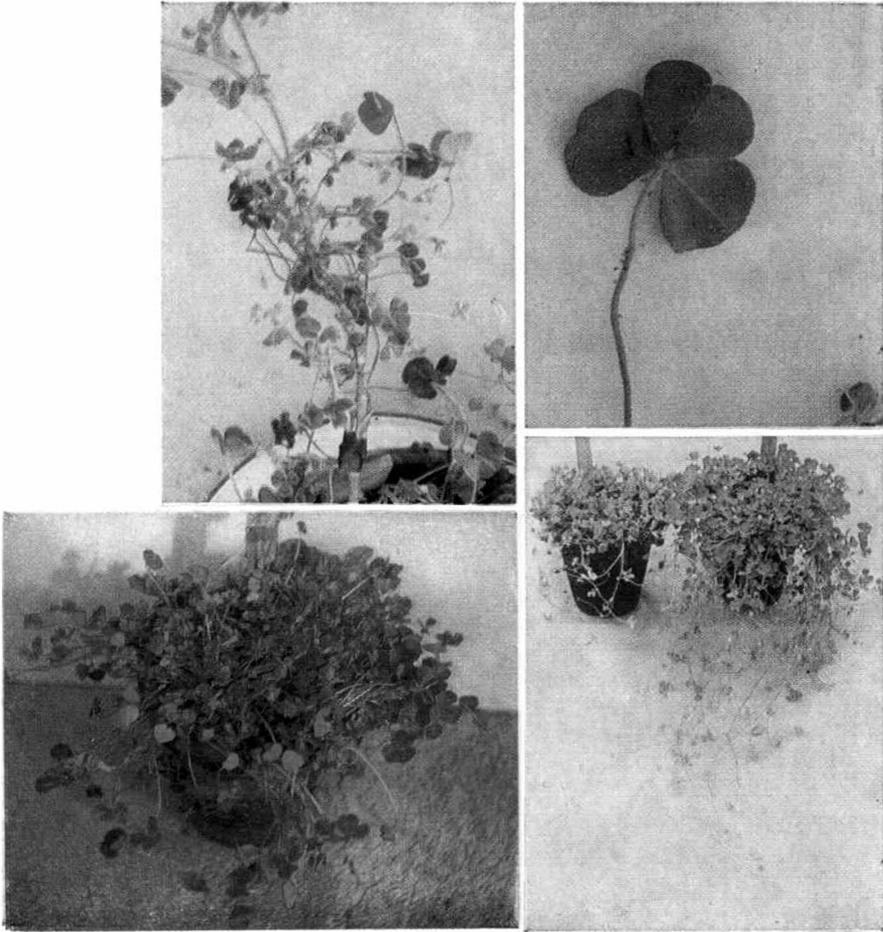
En las hojas afectadas, parte de la lámina de los folíolos tomaron coloración roja violácea.

Con frecuencia, en la hoja afectada, el borde del folíolo se tornaba rojo intenso, mientras que el resto de la lámina foliar permanecía verde. Esta sintomatología puede apreciarse en la fotografía N° 2, correspondiente a la planta N° 6 del ensayo "E I 1957".



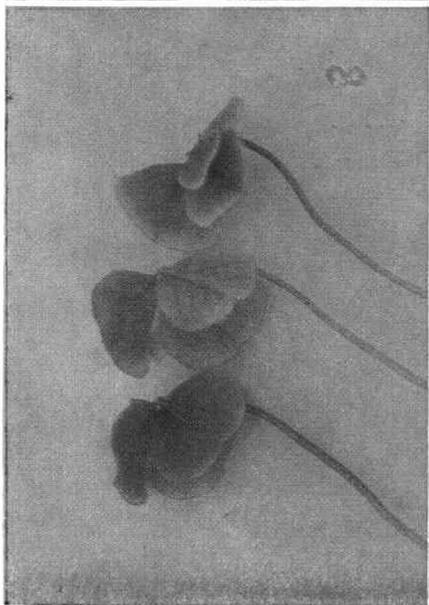
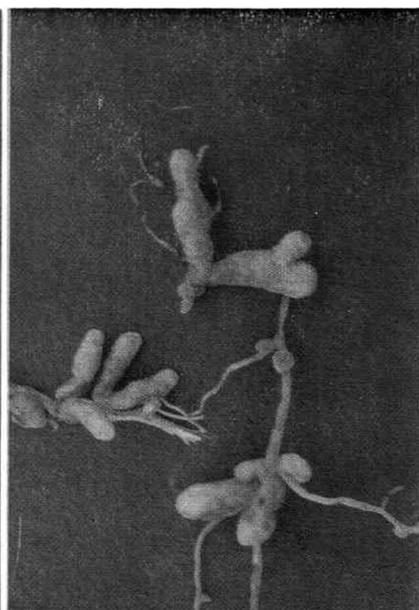
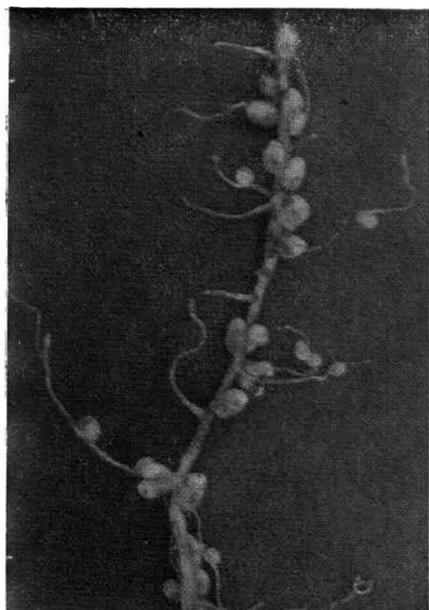
FOTOGRAFÍA Nº 1 (M. O. Bentancur).
 FOTOGRAFÍA Nº 2 (L. K. de Brotos)
 FOTOGRAFÍA Nº 3 (L. K. de Brotos)
 FOTOGRAFÍA Nº 6 (L. K. de Brotos)

1	2
3	6



4	5
7	13

FOTOGRAFÍA N° 4 ((M. O. Bentancur).
FOTOGRAFÍA N° 5. Hoja parasitada por pulgones (M. O. Bentancur).
FOTOGRAFÍA N° 7 (L. K. de Brotos).
FOTOGRAFÍA N° 13 (M. O. Bentancur).



FOTOGRAFIA Nº 8 (M. O. Bentancur).
FOTOGRAFIA Nº 9 (M. O. Bentancur).
FOTOGRAFIA Nº 10 (M. O. Bentancur).
FOTOGRAFIA Nº 11 (M. O. Bentancur).

8	9
10	11



FOTOGRAFÍA Nº 14 (L. K. de Broton).
FOTOGRAFÍA Nº 15 (M. O. Bentancur).
FOTOGRAFÍA Nº 16 (M. O. Bentancur).
FOTOGRAFÍA Nº 17 (M. O. Bentancur).

14	15
16	17

Los peciolos mantuvieron su coloración verde normal, los foliolos permanecieron normalmente extendidos, y la afección no comprometió mayormente la vitalidad de las plantas, ya que continuaron vegetando.

La fotografía N^o 3, correspondiente a la planta N^o 1 del ensayo referido precedentemente, permite apreciar un estado más avanzado de la virosis.

Los ensayos realizados para demostrar el origen viroso de la coloración roja, en hojas de trébol subterráneo, consistieron en la infestación de plantas sanas con jugos provenientes de plantas afectadas; en la realización de injertos por aproximación entre plantas sanas y enfermas, y en la utilización de pulgones como posibles vectores del virus.

a) *Trasmisión por jugos.*— Para la realización de este ensayo se eligieron brotes con hojas rojas, se trituraron en mortero y con el jugo así logrado se inocularon hojas sanas en plantas de trébol subterráneo y alfalfa, usando carborundum. Las plantas inoculadas no acusaron síntomas de enfermedad.

b) *Trasmisión por injerto.*— Para efectuar esta trasmisión se colocó la planta N^o 41 del ensayo "E I", típicamente afectada, entre cuatro plantas normales del mismo ensayo.

El 26 de junio se practicaron los injertos, uniendo por aproximación una guía de la planta enferma con una guía de cada una de las plantas sanas. Sólo uno de estos injertos prendió, y luego de separado de la planta madre vivió débilmente hasta que, a fines de agosto, los tréboles iniciaron un desarrollo más intenso, y el injerto activó su crecimiento.

El 5 de setiembre, la planta portadora del injerto presentó hojas rojas en los brotes nuevos de la guía injertada. En pocos días todas las guías de la planta presentaban hojas de coloración roja.

La fotografía N^o 4 corresponde a la zona del injerto prendido.

Este ensayo fue repetido, con idéntico resultado en otra planta, sana y vigorosa, del ensayo de 1956.

c) *Trasmisión por pulgones.*— Al finalizar el mes de julio aparecieron nuevamente pulgones en algunas plantas del ensayo "E II 1957".

Estos pulgones se localizaban principalmente en el envés de las hojas, eran de color verde grisáceo y algo más pequeños que los observados en el mes de abril, que eran negros a grisáceos, y parasitaban los brotes vegetativos.

Por intermedio de la División Zoología Agrícola del Departamento de Contralor de Plagas Agrícolas se enviaron insectos

alados de los pulgones verde-grisáceo al Ministerio de Agricultura de la Argentina, donde la Dra. Esmenia Tapia los clasificó como *Aphis gossypii*.

Se colocaron las plantas Nos. 6, 26 y 46 en jaulas, y se infestaron con pulgones; luego se traspasaron pulgones criados sobre estas plantas enfermas a plantas sanas y vigorosas. En todas las plantas así infestadas aparecieron hojas rojas después de un período que osciló entre 14 y 49 días. El retraso de la aparición de los síntomas de la afección en algunas plantas se debió, probablemente, a deficiencia de luminosidad del lugar de ubicación de esas plantas. Durante esta experiencia se comprobó que plantas con hojas rojas se volvían verdes cuando permanecían en las jaulas durante varias semanas, pero que al volverlas a lugares bien iluminados, algunas de las hojas retomaban la coloración rojiza característica.

A fines de octubre algunas macetas con plantas parasitadas por pulgones, y cuyas hojas tenían síntomas de la virosis, se ubicaron a la intemperie, entre plantas de un cultivo natural compuesto por trébol blanco (*Trifolium repens*), trébol manchado (*Medicago arabica* var. *maculata*) y trébol carretilla (*Medicago hispida* var. *denticulata*), sin que se notaran síntomas de virosis en esos tréboles.

DEFICIENCIA NITROGENADA

A mediados de junio se observó, en algunas plantas de los ensayos "E I" y "E II", que algunas hojas tomaban una coloración rojiza, diferente a la causada por la afección virosa.

Sintomatología

Al comienzo, las hojas tomaron una coloración verde pálida, y los dos folíolos empezaron a plegarse como alas de mariposa que se cierran. Las nervaduras principales de los folíolos tomaron un color rosado intenso, mientras que la lámina foliar permanecía verde pálida. La coloración rosada también se manifestó en los pecíolos. En la fotografía Nº 8 se puede apreciar esta sintomatología, observando la hoja central de la misma. En un estado más avanzado, las nervaduras tomaron coloración roja, y las láminas foliares se tornaron rosadas, lo que puede ser apreciado observando la hoja ubicada en la derecha de la fotografía Nº 8. Finalmente, toda la lámina foliar tomó coloración rojiza: hoja de la izquierda en la fotografía Nº 8.

En cierto período de la experiencia, las hojas que presentaban esta sintomatología se secaron. Las plantas afectadas emitieron,

en las extremidades de sus guías defoliadas, hojas nuevas de coloración verde pálido y de escaso desarrollo. Posteriormente, luego de transcurrir cierto período, estas hojas adquirieron la sintomatología descrita y, finalmente, se secaron.

Las plantas afectadas no perecieron; lograron florecer y fructificar, aunque en forma un tanto débil.

En un principio, esta sintomatología se hizo manifiesta en algunas plantas, aisladamente, dentro de los diversos blocks de ambos ensayos.

El número de plantas afectadas aumentaba, a medida que transcurría el tiempo, a tal punto que, el 23 de agosto, sólo nueve plantas del ensayo "E I" y ocho del ensayo "E II" conservaban su coloración verde, sin que la afectación guardara relación alguna con los diversos tratamientos ensayados.

Verificación de la deficiencia nitrogenada

En conocimiento de los autores de este trabajo que el doctor W. A. Beattie, consultor de F. A. O. en producción agropecuaria, estaba estudiando en nuestro país el mismo problema, encarándolo como posible deficiencia cúprica, se resolvió invitarlo, para discutir frente al ensayo los resultados logrados hasta ese momento.

Luego de un intercambio de ideas, se acordó observar las raíces de las plantas enmacetadas que presentaban las características anotadas.

Esta observación permitió comprobar que las raíces presentaban un sinnúmero de pequeñas nudosidades, en todo el largo de las raíces, impresionando por su tamaño, coloración y distribución como poco activas (ver fotografía N° 9).

Sólo en una planta, la N° 3 del ensayo 1956 (ver fotografía N° 10) que se había sembrado naturalmente, y que durante el transcurso de la experiencia se destacó por su follaje abundante y coloración verde, se observaron nudosidades grandes, alargadas, a veces mamelonadas, de color blanco rosado reluciente. Consideradas por el Dr. W. A. Beattie como buenas nudosidades, se resolvió de común acuerdo, inocular estas bacterias a plantas que presentaban la sintomatología descrita.

De la planta N° 3 (1956), se tomaron diversas nudosidades. Unas fueron puestas en contacto directo con las raíces de la planta N° 20 "E I", que en ese momento presentaba el aspecto que se observa en la fotografía N° 6. Las nudosidades restantes fueron machacadas en mortero de porcelana y desleídas con agua. Esta suspensión se utilizó para regar la planta N° 19 "E I", cuyas características, en el momento de la inoculación, se aprecian en la fotografía 7.

A medida que transcurría el tiempo, notábase una recuperación de las plantas así tratadas. Al mes, se destacaban del resto, por su mayor desarrollo y coloración verde normal.

En la fotografía N° 13, se puede observar el desarrollo experimentado por la planta N° 19, la de la derecha, en el lapso de un mes, si se le compara con el aspecto que presentaba previamente a la inoculación (ver fotografía N° 7) y también permite apreciar el contraste que ofrecía con respecto a una de las que integraban el resto del ensayo.

Con la finalidad de comprobar que la sintomatología observada, realmente era provocada por una deficiencia de nitrógeno, el ensayo "E II", a partir del 25 de setiembre, se dividió en dos grupos:

El grupo "A" constaba, en total, de treinta y seis plantas, tres por cada tratamiento con fertilizantes, y se regó con agua común.

El grupo "B" se integró seleccionando, por tratamiento con fertilizante, las dos plantas que presentaban mayor número de hojas rojas, y cuyo desarrollo vegetativo era el más raquítico.

En este grupo el riego se efectuó con solución de salitre de Chile al 1‰.

A los cinco días de iniciado este riego se comenzó a notar la mejoría, traducida en el marchitamiento total de algunas hojas, en el reverdecimiento de otras y en una nueva brotación vigorosa.

A las seis semanas de iniciado este tratamiento, se tomó la fotografía N° 14, correspondiente a un sector del grupo "A", en la cual se puede observar la sintomatología típica en estudio; y la fotografía N° 15, en la cual se comparan una planta del grupo "B" regada con salitre de Chile al 1‰, con una del grupo "A" sin salitre de Chile.

La fotografía N° 16 corresponde a una vista de conjunto del grupo "A", y la fotografía N° 17 corresponde al grupo "B". Comparando ambas fotografías resalta el efecto logrado con la utilización del salitre de Chile.

CONCLUSIONES

Las observaciones y ensayos realizados permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- 1) La presencia de hojas rojas en plantas de trébol subterráneo y la disminución progresiva de su desarrollo, en praderas de un año, se debe a deficiencia nitrogenada.

2) Esta deficiencia es originada por baja proporción de colonias de *Rhizobium* específicas de esta leguminosa, en los inóculos comerciales con que se trataron las semillas antes de la siembra.

3) Para obtener un buen desarrollo del trébol subterráneo es imprescindible inocular las semillas con colonias específicas de *Rhizobium*, capaces de competir con las líneas inefectivas que se encuentran en los suelos. Aquéllas se caracterizan por formar nódulos cerca del cuello de la raíz, de gran tamaño, de forma alargada y mamelonada y de color blanco rosado reluciente (ver fotografía N° 11).

Según estudios realizados en Australia (3) las líneas de bacterias fijadoras de nitrógeno específicas, producen nódulos más grandes y en menor número que las líneas no específicas. Se supone que ese menor número de nódulos se debe a la producción de sustancias que inhiben una infección posterior. Las líneas ineficaces invaden las raíces de las leguminosas con mayor rapidez que las eficaces, pero no llegan al estado de desarrollo que las capacite para inhibir la formación posterior de nuevos nódulos. A esto se debe la gran cantidad de nódulos pequeños y de poca vitalidad que parasitaban todas las raíces de las plantas con síntomas de deficiencia de nitrógeno observadas en los ensayos.

Las bacterias ineficaces, por lo general, no son capaces de fijar nitrógeno del aire y actúan como parásitos de las raíces invadidas.

4) A juicio de los autores, la virosis transmitida por el *Aphis gossypii* no afecta mayormente el desarrollo vegetativo de las plantas considerándola, en consecuencia, de menor gravedad.

RESUMEN

Con la introducción del trébol subterráneo (*Trifolium subterraneum*) como leguminosa para la formación de praderas artificiales, se observó que al iniciarse el invierno las hojas de muchos de estos tréboles tomaban una coloración rojiza, detenían su desarrollo y hasta llegaban a sucumbir en algunos casos. Esta afección se repitió en este tipo de cultivo en todo el país.

Por lo general, la semilla de trébol había sido inoculada, previamente a su siembra, con colonias de *Rhizobium* procedentes de Estados Unidos de América.

Para dilucidar este problema se realizaron ensayos en macetas, considerando la influencia de la temperatura, el grado de humedad de la tierra y los elementos nutritivos N, P, K, Ca, Mo y Bo, en diferentes combinaciones, siempre con resultados negativos.

Durante el transcurso de estos trabajos se comprobó la presencia de una virosis, transmitida por el *Aphis gossypii*, que también enrojece las hojas del trébol, pero no afecta mayormente el desarrollo vegetativo de las plantas.

La observación de las raíces de las plantas enmacetadas y ensayos posteriores permitieron comprobar que el enrojecimiento de las hojas del trébol, acompañado por un cambio de posición de los folíolos, y la detención del desarrollo de las plantas, se debe a deficiencia de nitrógeno, provocada por la falta de colonias de *Rhizobium* específicas del trébol subterráneo.

RECONOCIMIENTO

Los autores agradecen al Dr. W. A. Beattie y al Ing. Agr. Manuel O. Bentancur, sus sugerencias, y a este último, además, el trabajo fotográfico realizado.

BIBLIOGRAFIA CITADA

1. EWESON, I. W.— *Boletín de la Facultad de Ingeniería y Agrimensura*. Montevideo, vol. Nº V, Nº 11; 1956.
2. NEWMAN, R. J.— Molybdenum Deficiency in Central Highlands and Upper Goulburn Regions, and Adjoining Districts. *The Journal of Agriculture*. Melbourne, vol. 53: 451; octubre 1955.
3. RURAL RESEARCH IN C. S. I. R. O.— Number 8, june 1954, Melbourne.